



**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VİROLOJİ ANABİLİM DALI
VVR-YL-2013-002**

**BALIKESİR VE BOLU İLLERİNDE BULUNAN KANATLI
İŞLETMELERİNDE AVİAN REOVİRUS ENFEKSİYONUNUN
SEROLOJİK OLARAK ARAŞTIRILMASI**

**Veteriner Hekim
S. Belgin AYDIN**

**DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. Nural EROL**

AYDIN - 2013

**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VİROLOJİ ANABİLİM DALI**

VVR-YL-2013-002

**BALIKESİR VE BOLU İLLERİNDE BULUNAN KANATLI
İŞLETMELERİNDE AVİAN REOVİRUS ENFEKSİYONUNUN
SEROLOJİK OLARAK ARAŞTIRILMASI**

**Veteriner Hekim
S. Belgin AYDIN**

**DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. Nural EROL**

AYDIN - 2013

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

Viroloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Öğrencisi Vet. Hek. Sıdıka Belgin AYDIN tarafından hazırlanan “Balıkesir ve Bolu İllerinde Bulunan Kanatlı İşletmelerinde Avian Reovirus Enfeksiyonunun Serolojik Olarak Araştırılması” başlıklı tez, 20.09.2013 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

Ünvanı, Adı ve Soyadı :

Üniversitesi :

İmzası:

Yrd.Doç.Dr. Nural EROL

Adnan Menderes Üniversitesi



Doç.Dr. M.Tolga TAN

Adnan Menderes Üniversitesi



Doç.Dr. Süheyla TÜRKYILMAZ

Adnan Menderes Üniversitesi

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Yüksek Lisans/Doktora Tezi Enstitü Yönetim Kurulunun..... Sayılı kararıylatarihinde onaylanmıştır.

Prof.Dr.Sacide KARAKAŞ

Enstitü Müdürü

Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Santral: (256) 218 20 00 Direk Telefon: 218 20 44

09100- AYDIN
*Fax: (256) 218 20 44

ÖNSÖZ

Günümüzde en önemli gıda kaynaklarından biri kanatlı endüstrisidir. Türkiye’de kanatlı sektörünün gelişmesi zootekni ve biyoteknoloji alanındaki iyileştirmeler yanında hayvanların sağlık durumlarındaki problemlerin çözümüne bağlıdır. Kanatlılardaki sağlık problemlerinin önemli bir kısmını enfeksiyöz hastalıklar oluşturmaktadır. Avian reoviruslar (ARV) doğrudan veya dolaylı yollarla diğer enfeksiyöz hastalıklara zemin hazırlayarak kanatlılarda ekonomik zararlara yol açabilmektedir.

Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenen (Proje No: VTF-12031) bu çalışmada yurdumuzun en önemli tavuk yetiştiriciliği merkezlerinden olan Balıkesir ve Bolu illerindeki bazı broiler ve broiler damızlık sürülerindeki ARV enfeksiyonunun varlığı ve yaygınlık oranı serolojik olarak incelenmiştir. Bu araştırma ile ARV enfeksiyonlarının kanatlı sektöründeki önemi ve hastalıklarla mücadelede önemli rol oynayan aşılama programlarının saha şartlarında pratik uygulanışı konusunda bilgi elde edilmeye çalışılmış, aşı ve aşısız hayvanların antikor düzeyleri incelenmiştir.

Bu çalışmanın, bu bölgedeki tavuk yetiştiren işletmelerde hastalıktan kaynaklanan kayıpların azaltılması ve enfeksiyonlarla mücadele edilmesi amacıyla daha sonra yapılacak olan geniş kapsamlı araştırmalara kaynak teşkil etmesi amaçlanmıştır. Bunun sonucu olarak, söz konusu olan viral enfeksiyonun meydana getirdiği ekonomik kayıpları en az düzeye indirgenmesine yardımcı olmak hedeflenmektedir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
KABUL VE ONAY	i
ÖNSÖZ	ii
İÇİNDEKİLER	iii
KISALTMALAR DİZİNİ	iv
TABLolar DİZİNİ	v
1. GİRİŞ	1
1.1. Tanım ve tarihçe	3
1.2. Etiyoloji	4
1.2.1. Sınıflandırma	4
1.2.2. Virusun morfolojik, fizikokimyasal ve biyolojik özellikleri	5
1.2.3. Genomik yapı	6
1.2.4. Proteinler	8
1.3. Epizootiyoloji	9
1.3.1. Doğal ve deneysel konakçılar	9
1.3.2. Yaş ile ilgili direnç	9
1.3.3. Bulaşma	10
1.3.4. Dünyada ve Türkiye’de infeksiyonun dağılımı	10
1.4. Avian reovirus kaynaklı hastalıklar	13
1.4.1. Viral arthritis	15
1.4.1.1. İnkubasyon süresi ve patogenezi	15
1.4.1.2. Klinik	15
1.4.1.3. Patoloji	16
1.4.1.3.1. Makroskopik lezyonlar	16
1.4.1.3.2. Histopatoloji	17
1.4.2. Malabsorbsiyon sendromu	18
1.4.2.1. Etiyoloji	19
1.4.2.2. Patoloji	20
1.4.2.2.1. Histopatoloji	20
1.4.3. Enterik reovirus suşları	21
1.5. Immünite	22

1.6.	Teşhis	23
1.6.1.	İnfeksiyon etkeninin izolasyonu ve tanınması	24
1.6.1.1.	Virus izolasyonu	24
1.6.1.2.	Virusun direk tespiti ve identifikasyonu	25
1.6.2.	İndirekt teşhis	26
1.7.	Korunma ve kontrol	27
1.8.	Aşılama	28
2.	GEREÇ VE YÖNTEM	32
2.1.	Gereç	32
2.1.1.	Kan örnekleri	32
2.1.2.	Aşılar ve aşılama programı	34
2.2.	Yöntem	34
2.2.1.	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)	34
2.2.1.1.	Kit içeriği ve kullanılan malzemeler	34
2.2.1.2.	Testin uygulanışı	35
2.2.1.3.	Sonuçların değerlendirilmesi	35
2.2.2.	İstatistiksel değerlendirme	37
3.	BULGULAR	38
3.1.	Balıkesir ve Bolu illerindeki tüm kümeslerde ARV antikor pozitiflik oranları	38
3.2.	Aşısız hayvanlarda ARV infeksiyonunun yaygınlığı	38
3.3.	Aşılanmış hayvanlarda antikor pozitiflik durumu	39
3.4.	Aşılanmış ve aşılanmamış tavukların antikor pozitiflik durumlarının karşılaştırılması	40
4.	TARTIŞMA	43
5.	SONUÇ	49
6.	ÖZET	50
7.	SUMMARY	51
8.	KAYNAKLAR	52

KISALTMALAR DİZİNİ

AGPT	Agar Jel Presipitasyon Testi
ARV	Avian Reovirus
BF	Bursa Fabricius
CAM	Koryoallantoik Membran
CAV	Chicken Anemia Virus (Tavuk Anemisi Virusu)
CER	Chicken Embryo Rough
CPE	Cytopathogenic Effect (Sito Patojenik Etki)
EKS	Enterik Reovirus Suşu
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
FHN	Femoral Head Necrose (Femur Başı Nekrozu)
HK	Hücre Kültürü
IBDV	Infectious Bursal Disease Virus (İnfeksiyöz Bursal Hastalık Virusu)
IIFT	İndirekt İmmunofloresan Testi
kDA	Kilo Dalton
LMH	Leghorn Male Hepatocytes (Leghorn Erkek Hepatositleri)
MAS	Malabsorbsiyon Sendromu
PRT	Plak Redüksiyon Testi
REA	Restriksiyon Enzim Analizi
RNA	Ribonükleik Asit
RT-PCR	Reverse Transcriptase - Polimerase Chain Reaction
SPF	Spesifik Patojen Free
VNT	Virus Nötralizasyon Testi

TABLolar DİZİNİ

Tablo		Sayfa
2.1	Balıkesir ve Bolu illerindeki aşılı ve aşısız broiler damızlık ve aşılı ve aşısız damızlık kaynaklarından alınan broiler tavuk örnek sayıları	32
2.2	Kan örneklerinin alındığı işletme ve kümes sayıları	33
3.1	Balıkesir ve Bolu illerinden toplanan aşılı ve aşısız bütün kümeslerde ARV antikor pozitiflik oranları.	38
3.2	Balıkesir ve Bolu illerinde aşısız broiler ve broiler damızlıklarda seropozitiflik oranları	38
3.3	Bolu ve Balıkesir illerinde aşılı broiler ve broiler damızlıklarda antikor pozitiflik oranları	39
3.4	Aşılı ve Aşısız broilerlerde antikor pozitiflik oranları	41
3.5	Aşılı ve aşısız broiler damızlıklarda antikor pozitiflik oranları	41
3.6	Bolu ve Balıkesir illerinde aşılı ve aşısız broiler tavuklarda ortalama antikor titreleri	41
3.7	Bolu ve Balıkesir illerinde aşılı ve aşısız broiler damızlıklarda ortalama antikor titreleri	42

1. GİRİŞ

Viruslar, direkt veya dolaylı olarak hayvanlarda, ölüm, gelişme geriliği, verimde azalma, reproduktif problemler, gibi çeşitli sorunlar oluşturmakta ve buna bağlı olarak büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bu ekonomik kayıplar hayvancılığın gelişmesine engel olmaktadır.

Hayvanların sağlıklı olarak yetiştirilebilmesi ve en yüksek verimin elde edilebilmesi için, enfeksiyöz hastalıklardan koruma önemli bir rol oynamaktadır. Bu amaçla, bölgede ve işletmelerde bulunan yaygın hastalıkların bilinmesi, viral hastalıklar yönünden sürekli kontrollerinin yapılması gerekmektedir. Viral hastalıkların tanısının yapılması ve epidemiyolojik durumlarının araştırılması, mücadele yöntemlerinin belirlenmesi ve geliştirilmesi için önemli bir kriterdir. Viral hastalıkların epidemiyolojik kontrol ve analizlerinin düzenli olarak yapılması ve teşhis edilmesi ile bölgedeki varlıklarının ve yaygınlıklarının belirlenmesi mücadele, kontrol ve eradikasyon açısından çok önemli olup, bu hastalıklardan kaynaklanan ekonomik kayıpların azaltılmasına ve hatta ortadan kaldırılmasına yardımcı olabilmektedir.

Avian reoviruslar direkt olarak eklem şişmeleri ve gastrokinemius tendonundaki lezyonlar ve topallıkla karakterize olan tenosynovitis olarak da bilinen viral arthritis sendromu etkeni olmasının yanında, kanatlı sürülerinde enterik-respiratorik hastalıklar, myokarditis, hepatitis, stunting (gelişememe) / malabsorbition sendromu, helicopter disease (helikopter hastalığı), brittle bone disease (kırılgan kemik hastalığı), femoral head necrosis (FHN; femur başı nekrozu) gibi birçok klinik tabloda yalnız veya başka patojenik bakteri ve virus infeksiyonları ile birlikte saptanmışlardır. Ayrıca reovirusların kümes hayvanlarında asemptomatik infeksiyonlara yol açabildiği ve immunsupresif etkilerinin olduğu bilinmektedir. ARV tüm dünyada yaygındır.

Türkiye'nin çeşitli yörelerindeki kanatlı işletmelerinde de yalnız veya miks infeksiyon şeklinde seyreden çeşitli hastalık olgularında virusun varlığı saptanmıştır. Ancak ARV infeksiyonunun Türkiye'deki varlığı ve yaygınlığı konusundaki araştırmalar sınırlı olup, bu infeksiyonun kanatlı yetiştiriciliğine, dolayısıyla ekonomiye verdiği zararlar konusunda yeterli derecede bilgi bulunmamaktadır.

Özellikle kanatlı yetiştiriciliğinin yoğun olduğu Balıkesir ve Bolu illerinde ARV infeksiyonunun yaygınlığı konusunda kayıtlı bilimsel veri bulunamamıştır. Ayrıca Türkiye’de ARV infeksiyonuna karşı düzenli ve resmi bir mücadele programı uygulanmamaktadır ve infeksiyona karşı yapılan aşılama ların da etkinliği bilinmemektedir.

Hastalık etkenlerinin bilinmesi ve yöredeki durumunun belirlenmesi, hastalıklarla mücadelede başarıya ulaştıran önemli faktörlerdendir. Bu çalışmada, dünyada ve ülkemizde yaygın görülen ancak sebep olduğu ekonomik kayıplar yeterince bilinmediği için gerekli önlemlerin alınmadığı bilinen ARV infeksiyonlarının ülkemizin tavuk yetiştiriciliği yönünden en önemli merkezlerinden olan Balıkesir ve Bolu yörelerindeki broiler ve broiler damızlık işletmelerinde serolojik olarak varlığının ve yaygınlık oranının saptanması amaçlanmıştır. Bu bağlamda ARV infeksiyonunun kanatlı sektörüne verebileceği ekonomik zararlar konusunda farkındalığın artırılmasına katkıda bulunmak hedeflenmiştir. Çalışmada ek olarak saha şartlarında aşılanmış ve aşılanmamış tavuklardaki antikör titreleri karşılaştırılarak aşı uygulamalarının düzenli yapılıp yapılmadığı, yeterli immun yanıt elde edilip edilmediği planlanmış, dolayısıyla yörede yapılan aşılama ların etkinliği konusunda bilgi edinmeye çalışılmıştır.

1.1. Tanım ve tarihçe

Reoviridae virus ailesi viroloji içinde içerdiği 12 cins ile en karmaşık olan ailelerden birisidir. Bu aileye ait viruslar, memeliler, sürüngenler, amfibiler, balıklar, omurgasızlar ve bitkilerde bulunmaktadır. *Reoviridae* ailesine ait ilk viruslar insan ve hayvanların solunum ve sindirim sistemlerinden izole edilmiştir. O dönemde bilinen herhangi bir hastalıkla da ilişkilendirilemedikleri için de “Orphan” olarak nitelendirilmişlerdir. Bu nedenle ismini “Respiratorik Enterik Orphan”ın kısaltmasından almıştır. Bu viruslar bugün *Orthoreovirus* cinsi altında bulunmaktadır. *Reoviridae* ailesine daha sonra insan ve hayvanlarda önemli patojenler olan *Orbivirus*, *Coltivirus*, *Rotavirus* ve *Aquareovirus*lar eklenmiştir (Murphy ve ark 2008).

Avian Reoviruslar (ARV), kanatlılarda viral artrit/tenosinovitis, solunum hastalığı, enterik hastalık ve gelişme geriliği/malabsorbsiyon sendromu gibi bir dizi hastalıkla (Rosenberger ve Jones 2003) ile ilişkilendirilmiştir. Ancak viral artrit/tenosinovitis haricinde ARV'nin bu hastalıklara sebep olma açısından ilişkisi henüz tam olarak aydınlığa kavuşmamıştır.

Avian reoviruslar kanatlılarda, bütün dünyada yaygındır. Avian reoviruslar hem hastalıklı hem de klinik olarak sağlıklı tavukların dışkı ve dokularından sıklıkla izole edilmektedirler (Guy 1998). Avian reoviruslar, kanatlı sektöründe ciddi kayıplara neden olabilmektedir (Rosenberger ve Jones 2003).

Avian reoviruslar ilk defa 1954 yılında PPLO (pleuropneumonia-like organisms) olarak kronik solunum yolları hastalığı olan tavuklardan izole edilmiştir (Fahey ve ark 1954). 1967 yılında İtalya'da reovirus olarak tanımlanmıştır (Petek ve ark 1967).

Olson ve ark (1957), 50'li yılların sonunda mikoplazmalarla ilgili bir çalışma esnasında broilerlerde sinovitis oluşumuna yol açan, ancak klortetrasiklin ve furazolidon'a duyarlı olmayan bir enfeksiyöz ajan izole etmişlerdir. Daha sonra bu sinovitis oluşturan enfeksiyöz ajanın diğer antibiyotiklere de duyarlılık göstermediği ve aslında bir reovirus olduğu ortaya konulmuştur. Ayrıca 1972'de hayvan deneyleri esnasında da virusun tenosinovitis oluşturduğu saptanmıştır (Olson ve Weiss 1972). Kısa zaman sonra reoviruslar dünya çapında sinovitis vakalarından izole edilmiştir. 1972'de elektron

mikroskobunda reovirus olarak identifiye edilen viral etken olarak artritis vakalarında bulunmuştur (Olson ve Kerr 1966, Walker ve ark 1972). 1976'da Connecticut S1133 izolatından canlı aşı üretimi denemeleri yapılmıştır. 1978 yılında ABD'de ilk kez reovirus aşı uygulamalarına izin verilmiştir (Van der Heide 2000).

Avian reovirusların barsak hastalıklarında da rol oynayabildiği 60'lı yılların sonundan itibaren tespit edilmeye başlanmıştır (Krauss ve Überschar 1966). Ayrıca reoviruslar myocarditis ve hepatitis olgularında da izole edilmiştir. 70'li yılların sonunda malabsorbsiyon sendromunun ilk salgınları bildirilmiştir (Kouwenhoven ve ark 1978).

1.2. Etiyoloji

1.2.1. Virusun sınıflandırılması

Avian reoviruslar *Reoviridae* ailesinin (familyasının) *Orthoreovirus* cinsi içerisinde yer alan viruslardır.

Reoviridae ailesi altında 12 cins (genus) sınıflandırılmaktadır. Bu cinsler *Cypovirus*, *Fijivirus*, *Orbivirus*, *Orthoreovirus*, *Oryzavirus*, *Aquareovirus*, *Rotavirus*, *Coltivirus*, *Phytoreovirus*, *Seadornavirus*, *Mycoreovirus* ve yeni bir cins (genus) olarak önerilen insekt reoviruslarıdır. İnsanlar ve hayvanlar için önemli 4 cinsi bulunmaktadır. Bunlar *Orthoreovirus* (*Reovirus*), *Rotavirus*, *Orbivirus*, *Coltivirus*dur. Diğer cinsler sadece bitkilerde bulunmaktadır (Mertens 2004).

Orthoreovirus cinsi üç farklı alt gruba ayrılan dört adet tür kapsamaktadır. Altgrup I memeli orthoreoviruslarını, altgrup II avian reoviruslarını ve Nelson Bay virusunu kapsamaktadır. Altgrup III ise Babun virusu tarafından temsil edilir (Mertens 2004). *Orthoreovirus* cinsi, 3 adet memeli virusu (alt grup I) ve numaralar ile gösterilen 11 adet de avian reovirus (Alt grup II) içermektedir (Wood et al 1980, Mertens 2004).

Orthoreovirus cinsi içerisinde bulunan memeli ve avian reoviruslarının birçok bakımdan benzerlikleri olmasına rağmen, konakçı spektrumu, patojeniteleri ve biyolojik ve serolojik özellikleri açısından birçok önemli farklılıkları bulunmaktadır (Spandidos ve Graham 1976, Rosenberger ve ark 1989, Bodelon ve ark 2001). Avian reoviruslar memeli

reoviruslarındaki gibi hemaglutinasyon özelliğine sahip değildir (Hieronymus ve ark 1983, Kawamura ve ark 1965). Buna karşın hücre füzyonu ve sinsitium oluşumuna neden olabilmektedir. Antijenik olarak ARV'larını, memeli reoviruslarının birbirinden net bir şekilde ayrılan 3 serotipi gibi sınıflandırmak mümkün değildir (Benavente ve Martinez-Costas 2007). Jel elektroforezinde proteinleri, aynı zamanda proteinlerin antijenik özellikleri ve gen segmentleri memeli ve avian reoviruslarının farklı olduklarını göstermektedir. Avian reoviruslara karşı oluşan antiserumlar memeli reoviruslarını nötralize etmemektedir (Gouvea ve Schnitzer 1982a).

Son 20 yılda yapılmış olan çalışmalarda ARV'ların memeli reoviruslarına göre çok farklı özellikleri ve aktiviteleri olduğu ortaya çıkmıştır. Avian reovirusunun S1 geni yapısal ve fonksiyonel olarak eşsizdir. S1'in 3 üç adet sistronunun translasyonunun başlatılması, kodlanan proteinlerin özellikleri ve işlevleri yeni araştırmalar için ilginç konuları oluşturmaktadır. Örneğin ARV, hücre-hücre füzyonuna yol açan az sayıdaki zarsız virustan birisidir. ARV'unun füzyojenik özelliği S1 geninin ikinci sistronu olarak kodlanan ve yapısal olmayan 10 kDA'luk bir transmembran protein ile ilişkilendirilmiştir. Bu füzyon proteininin atipik küçük yapısı, hücre-hücre füzyonunun mekanizmalarının çalışılması için ilginç bir model oluşturmaktadır. Ayrıca avian reoviruslar interferona yüksek oranda dirençlidirler. Bu nedenle bu virusların interferonun antiviral etkilerine nasıl karşı koyduğu ile ilgili olan stratejilerin ve mekanizmaların araştırılması için yararlı oldukları düşünülmektedir (Benavente ve Martinez-Costas 2007).

Reovirusların serotipleri serolojik ve genotipik olarak tanımlanmışlardır. Serotiplerin her birinde bulunan virusların ortak antijenleri serolojik testlerle gösterilmiştir. Farklı serotiplerdeki viruslar arasında düşük düzeyde bazı serolojik çapraz reaksiyonlar olabilmektedir. Ancak bu karışıklık genotiplendirme ile giderilmektedir (örn; kısmi sekanslama). Rotavirus cinsine dahil virusların sınıflandırılması da genotipik ve serolojik analizlere dayanmaktadır. Gruba spesifik kapsid antijeni VPA'nın farklılaşması ana grupların tanımlanmasında kullanılmaktadır (Martinez-Costas ve ark 1995).

1.2.2. Virusun morfolojik, fizikokimyasal ve biyolojik özellikleri

Reoviridae familyası üyeleri genel olarak, iki katlı kapside sahip olan, ikosahedral yapıda viruslardır. Genomları, çift iplikçikli RNA yapısında olup, 10-12 adet segmentten

(birbirinden ayrı RNA molekülü) oluşmaktadır (Benavente ve Martinez-Costas 2007). Genomun moleküler ağırlıkları toplam 15×10^6 (yaklaşık 18) Dalton (Da)'dur. Virion, transkriptazları ve diğer enzimleri içermektedir (Hieronymus ve ark 1983, Kawamura ve ark 1965, Walker ve ark 1972). Zarsız viruslardır (Walker ve ark 1972). Virionların çapı 50 -75 nm olarak belirlenmiştir (Hieronymus ve ark 1983, Spandidos ve Graham 1976, Van der Heide ve ark 1981). Sezyum kloritte santrifüje edildiğinde 1.37 g / ml yoğunluğunda olduğu saptanmıştır (Spandidos ve Graham 1976, Van der Heide ve ark 1981, Gooß 2008).

Virionlar zarsız olmaları nedeniyle kloroforma ve etere karşı dirençlidirler. Sodyum deoksikolat ve formalin'e karşı da dirençleri bulunur (Adair ve ark 1987, Kawamura ve ark 1965, Montgomery ve ark 1986). Virus genomu çift iplikçikli RNA yapısında olduğu için idoksiuridin'e karşı dayanıklıdır (Benavente ve Martinez-Costas 2007). Viruslar pH3 ile pH9 arasında relatif stabildir. Ancak tuz içermeyen pH nötral veya asidik tampon çözeltilerde ve birçok dondurma ve çözündürme işlemi esnasında enfeksiyözitelerini kaybeder. Ultraviyole ışın ile inaktive olma süresi 120-720 saniye gibi değişken olması dikkat çekicidir (Deshmukh ve Pomeroy 1969).

Yüksek sıcaklıklardaki dayanıklılık denemeleri çeşitli sonuçlar göstermiştir (Petek 1967, Glass ve ark 1973, Spandidos ve Graham 1976, Hieronymus ve ark 1983). ARV 50-56°C'deki sıcaklıklarda saatlerce dayanıklı kalabilmektedir (60°C'de 10 saat, 37°C'de 15 hafta) (Deshmukh ve Pomeroy 1969, Rosenberger ve Olson 1997). Fakat ARV 40°C derecedeki sıcaklıkta dış kapsit proteinlerini kaybetmektedirler (Grande ve Benavente 2000). Böylece kuşların vücut sıcaklıklarında, yani 39.5°C'nin üzerindeki sıcaklıkta dış kapsitin proteinleri kaybolabilmektedir. Muhtemelen bu nedenle intestinal hücrelerde virusun penetrasyonu ve / veya intraendozomal uncoating hafifletilebilir (Benavente ve Martinez Costas 2007). Düşük sıcaklıklarda da ARV dayanıklıdır ve enfeksiyözitelerini aylarca korurlar (Olson ve Kerr 1966). Virus pH nötr olan bir tuz tampon çözeltisinde +4°C'de aylarca stabil kalabilmektedir (Grande ve Benavente 2000).

1.2.3. Genomik yapı

Avian reovirus genomu çift iplikçikli ve 10 segmentli RNA'dan oluşmaktadır (Spandidos ve Graham 1976). Segmentler elektroforetik hareketliliklerine, yani

büyükliklerine göre L (large), M (medium) ve S (small) olarak 3 sınıfa ayrılırlar (Gouvea ve Schnitzer 1982, Rekik ve ark 1991).

L sınıfında bulunan üç segment L1, L2, L3 olarak isimlendirilir. Orta büyüklükteki M sınıfında M1, M2, M3 olmak üzere üç segment gruplandırılır. Küçük olan S sınıfındaki segmentler ise S1, S2, S3 ve S4 olmak üzere 4 tanedir. L segmentlerinin moleküler ağırlıkları L1 segmenti için $2.4 - 2.42 \times 10^6$ Da (dalton), L2 için $2.35 - 2.4 \times 10^6$ Da, L3 ise $2.25 - 2.3 \times 10^6$ Da'dır. M1 segmenti $1.52 - 1.6 \times 10^6$ Da, M2 $1.42 - 1.6 \times 10^6$ Da ve M3 segmenti için de 1.34×10^6 Da büyüklüğündedir. Buna karşın S1 segmenti $0.98 - 1.1 \times 10^6$ Da, S2 segmenti $0.7 - 0.74 \times 10^6$ Da, S3 segmenti $0.65 - 0.69 \times 10^6$ Da ve S4 segmenti ise $0.62 - 0.64 \times 10^6$ Da büyüklüğündedir (Spandidos ve Graham, 1976).

S1 segmenti, S2'den daha yakın olmasına ve M sınıfında bir gen olarak kabul edilmesi gerekmesine rağmen, memeli reoviruslarına benzerliğinden dolayı S1 olarak tanımlanmış bulunmaktadır. Yani, her iki virus da 3 M ve 4 S geni taşımakta ve her iki virusun da λ - sınıfı hücre bağlantı proteini S1 geni tarafından kodlanmaktadır. Avian reovirus S1133 suşunun L2 segmenti hariç tüm genom parçalarının nükleotid dizilimleri belirlenmiştir. S1 haricinde de tüm diğer genom parçaları tek bir primer translasyon ürününü kodlamaktadır (Spandidos ve Graham, 1976).

Her segmentin pozitif iplikçiği mRNA'da kodlanana eşdeğerdir ve 5'bitiminde tip-1 cap taşımaktadır. Buna karşın negatif iplikçik 5' bitiminde (GCUUUUU) bir pirofosfat grubu taşımaktadır. Bilindiği kadarıyla 3'-bitimindeki son beş nükleotid (UCAUC) avian reovirusların tüm pozitif iplikçiklerinde korunmuştur. Bu da bu segmentlerin (sekansların viral transkriptlerinin) transkripsiyonu, replikasyonu ve/veya enkapsidasyonu için hedefin sinyal verici olduğunu göstermektedir (Spandidos ve Graham, 1976).

Reoviridae ailesinin diğer üyelerinde olduğu gibi avian reoviruslarda da, 2 farklı avian reovirus izolatının aynı hücreyi enfekte etmesi sonucu, oluşan genetik reassortment ile her iki ana virustan genom parçaları taşıyan, bireysel genom segmentlerinin fenotipik özelliklerine sahip yeni projeni virusları oluşabilmektedir (Martinez-Costas ve ark 1995).

1.2.4. Proteinler

Avian reovirus genomu en az 12 primer translasyon ürünü kodlamaktadır ve bunların sekiz tanesi projeni virionlarına katılan yapısal proteinler iken, diğeri 4 tanesi olgun virionlarda bulunmayan ancak enfekte hücrelerde sentezlenen yapısal olmayan proteinlerdir (Martinez-Costas ve ark 1997). L sınıfındaki genler λ (lambda), M-sınıfındaki genler μ (mu) ve S sınıfındaki genler ise σ (sigma) olarak kodlanmıştır. Her sınıftaki yapısal proteinler elektroforetik mobilitelerine göre ve 1, 2 şeklinde gösterilen memeli reoviruslarından ayırtetmek amacıyla alfabetik olarak A, B vb. şekilde gösterilmektedirler.

Avian reovirionunun en az 10 farklı yapısal proteini vardır ki 8 tanesi (λ_A , λ_B , λ_C , μ_A , μ_B , σ_A , σ_B ve σ_C) kodlanmış olan mRNA'larının translasyon ürünleri, diğeri ikisi de prekürsörleri olan μ_B proteininin post translasyonel ayrılmasından kaynaklanan μ_{BN} ve μ_{BC} 'dir. Yapısal proteinlere ek olarak avian reovirusları birkaç yapısal olmayan protein de içermektedir. Böylece, M3 ve S4 genleri enfekte hücrelerin sitoplazmalarında saptanmış olan iki temel yapısal olmayan proteini kodlar (Gouvea ve Schnitzer 1982, Varela and Benavente 1994).

Avian reovirus polipeptidlerinin her birini kodlayan genin varlığı in vitro olarak tek tek denature genom segmentlerinin translasyonu yoluyla ile saptanmıştır (Varela ve Benavente 1994). Elde edilen sonuçlar, viral genlerin boyutları ile kodladıkları proteinlerin boyutları arasında, S1 segmenti hariç, yakın ilişki olduğunu ortaya çıkartmıştır. S sınıfı genlerin en büyüğü olan bu gen σ sınıfı polipeptidlerin en küçüğü olan yapısal protein σ_C 'yi kodlamaktadır. Bu genin sekanslanması sonucunda değişik bir sistron yapısının olduğunu ortaya çıkartmıştır (Shapouri ve ark 1995). Bu sistronların kodladığı proteinlerin her birine karşı spesifik antikorların kullanılması ile, ARV S1 geninin enfekte hücrelerde iki yapısal olmayan ve bir yapısal olan proteini kodladığı saptanmıştır. Bunun sonucunda S1 geninin esasen fonksiyonel olan bir trisistronik gen olduğu gösterilmiştir (Bodelon ve ark 2001).

1.3. Epizootiyoloji

1.3.1. Doğal ve deneysel konakçılar

Reoviruslar birçok kanatlı türünde görülmekle birlikte tavuklar ve hindiler reovirusların neden olduğu artritler için bilinen hem doğal ve deneysel konakçılardır. Reoviruslar artritli hindilerden de izole edilmişlerdir. Van der Heide ve ark tarafından hindilerden elde edilen bir izolatın tavuklarda patojen olduğu saptanmıştır (Montgomery ve ark 1997). Elde edilen hindi izolatu tavuk virus S1133 antiserumu tarafından nötralize edilmiştir. Hindiler tavuklara göre reoviruslara daha dirençli olmalarına rağmen hindi palazlarında reoviruslardan kaynaklanan tenosinovitislerde yüksek mortaliteye rastlanmıştır (Adair ve ark 1987). Grande ve ark (2000) tarafından hindi dışkısında tavuk izolatları ile aynı grup spesifik antijenleri olan, ancak mevcut antiserumlar tarafından nötralize edilmeyen bir reovirus saptanmıştır. Reoviruslar; ördeklerde, kazlarda, güvercinlerde, ağaçkakanlarda ve bazı papağan türlerinde klinik olarak saptanmakla birlikte aralarında belirli bir ilişki kurulamamıştır (Bodelón ve ark 2001, Jones ve Guneratne 1984).

Farklı ülkelerde, muscovy ördeklerinde genel kırgınlık, diare ve gelişme geriliği ile karakterize bir hastalık bildirilmiştir. İzole edilen viruslar deneysel olarak çoğaltılabilmektedir (Gouvea ve Schnitzer 1982).

1.3.2. Yaş ile ilgili direnç

Kanatlıların ARV'a duyarlılıkları yaşa göre değişmektedir. Hayvanlar ne kadar yaşlı ise infeksiyon sonucu doku zararı o kadar azdır ve virus izolasyon oranı o oranda düşüktür. İnfeksiyona yaşlı hayvanlar daha dirençlidir (Jones 2000). Reovirusların neden olduğu artritlerde yaşa bağlı olarak direnç oluşmaktadır. Daha yaşlı civcivlerde infeksiyon sonucu oluşan hastalık genel olarak daha az şiddetli seyretmekte olup, inkübasyon periyodu daha uzundur. Buna karşın bir günlük maternal antikor taşımayan civcivlerde hastalık daha hızlı oluşturulmaktadır (Forrest ve Dermody 2003).

Yaşa bağlı duyarlılığın, çok genç hayvanlarda yeterli bir immun yanıt oluşturma yeteneklerinin henüz gelişmemesinden, diğer bir deyişle immun sistemin henüz tam olarak

olgunlaşmamasından kaynaklandığı düşünülebilir (Forrest ve Dermody 2003). Örneğin bir günlük spesifik patojen free civcivlerin deneysel infeksiyonundan sonra intestinal IgA tespit edilemezken, 7 günlük veya 3 haftalık hayvanlara yapılan inokülasyondan sonra intestinal antikor titresi güçlü bir şekilde artmaktadır (Mukiibi-Muka ve Jones 1999).

1.3.3. Bulaşma

Avian reoviruslar hem horizontal (yatay) hem de vertikal (dikey, maternal) (Giambrone ve ark 1991a) bulaşabilir. Bulaşma temasta olan hayvanlara primer infeksiyondan aylar sonra dahi mümkündür. Deneysel olarak enfekte hayvanların dokularında ARV persiste olabilmektedir (Montgomery ve Maslin 1991).

Reovirusların horizontal bulaşması geniş bir şekilde dökümente edilmiştir (Jones ve Guneratne 1984). Ancak virusun horizontal yayılmasında virus suşları arasında bir hayli farklılık bulunmaktadır. İnokülasyondan 10 gün sonrasına kadar reoviruslar hem intestinal hem de solunum sistemi yoluyla atılabilmektedir. Ancak viruslar barsaklardan daha uzun süreyle saçılmaktadırlar. Bu durum fekal bulaşmanın temel yayılma yolu olduğunu göstermektedir (Giambrone ve Hathcock 1991a, Gouvea ve Schnitzer 1982). Bir günlük yaştaki civcivlerin oral yola göre solunum kanalı yoluyla olan bulaşmalara daha duyarlı olduğunu göstermişlerdir. Özellikle enfekte olan genç hayvanlarda virus sekal, tonsiller ve diz ekleminde daha uzun süre ile kalmaktadır (Frazier ve Reece 1990, Grande ve Benavente 2000) Bu hayvanlar kontak ile bulaşmada potansiyel taşıyıcı olarak görülebilir. Bazı araştırmacılar avian reovirusların vertikal olarak da bulaşabildiğini açıkça göstermişlerdir (Guo ve ark 2003). Menendez ve ark (1975a) 15 aylık damızlık tavukların oral, trakeal ve nazal olarak inokülasyonlarından sonraki 17., 18. ve 19. günlerde yumurtlanan yumurtalarda virusu tespit edebilmişlerdir. Yumurta ile transfer oranı düşük bulunmuştur (%1,7). Reoviruslar ayrıca deneysel olarak enfekte edilmiş tavukların embriyolu tavuk yumurtalarından hazırlanan civciv fibroblast hücre kültürlerinden izole edilmişlerdir (Menendez ve ark 1975a) .

1.3.4. Dünyada ve Türkiye’de infeksiyonun dağılımı

Reoviruslar başlangıçta genç tavuklarda (tenosinovitis oluşturan patojen ajanlar olarak keşfedilmişlerdir (Olson 1978). Daha sonra dünyanın hemen her yerindeki tavuklar

ve hindilerde ve diğer kanatlılarda son derece yaygın olduğu görülmüştür. Ticari tavukların hemen hemen tamamının hayatlarının bir döneminde bu viruslarla karşılaştığı düşünülmektedir. Dünyada yaygın olarak tespit edilen ARV'ların yaklaşık olarak %85-90'ı apatojen olarak belirlenmiştir (Jones 2003). Ancak virusun patojen suşlarının kanatlılardaki tenosinovitis, malabsorbsiyon sendromu, enteritler, solunum yolları infeksiyonları gibi çok çeşitli hastalıklarda fonksiyonu olduğu belirtilmektedir. 1981'den beri hasta hayvanlarda reoviruslar devamlı izole edilmektedir. Fakat aşı programlarına lokal izolatların dahil edilmesine rağmen bugün hala sahada salgınlara rastlanmaktadır. 2001 yılında Polonya'da hem merkezi sinir sistemi semptomlarına hem de yüksek mortaliteye neden olan bir reovirus izolatı bulundu. Bu izolat, serolojik olarak diğer ARV'lardan farklı olup, enterik reovirus suşu (ERS) adı altında yeni bir grup olarak sınıflandırılmıştır (Van Loon ve ark. 2001).

Viral artritler başlıca et tipi tavuklarda görülmektedir. Ancak daha hafif ırklarda (Giambrone ve Hathcock 1991) ve hindilerde de rastlanmaktadır (Montgomery ve ark 1997). Ayrıca reovirusların klinik olarak normal bulunan tavukların sindirim ve solunum sistemlerinde de yaygın olarak bulunabildiği bildirilmektedir. Tavuklarda izole edilen reovirusların % 80'den fazlasının apatojen olduğu düşünülmektedir (Martínez-Costas ve ark 1997).

Yerleşmiş reovirus izolatları olan suş WVU 2937 (Olson ve Weiss 1972), Reo 25 (Deshmukh ve Pomeroy 1969a) ve UMI 203 (Johnson, 1972) da gibi izolatlara ek olarak, daha sonra Van der Heide ve ark (1974) tarafından tenosinovitli tavuklardan Connecticut Üniversitesi diagnostik giriş kayıt numarası olan S1133 kodu verilen bir reovirus da izole edilmiştir. Daha önce bildirilen beş farklı serotipe ek olarak Sahu ve Olson (1975) dört ve Deshmukh ve ark (1969) da iki farklı serotip bildirmiştir. Van der Heide'nin (1977) araştırmaları ABD'deki tüm serotiplerin her ne kadar S1133 antiserumu ile tam olarak nötralize edilmeseler de serolojik bakımdan birbiri ile ilişkili olduğunu ortaya koymaktadır.

Pantin-Jackwood ve ark. 2005-2006 yıllarında ABD'deki 43 ticari broiler ve 33 ticari hindi işletmesinden toplanan barsak örneklerinde çeşitli viruslarla birlikte avian reovirus varlığı araştırmışlardır. Reovirus identifikasyon oranı tavuk ve hindilerde sırasıyla

% 62,8 ve %45,5 oranında saptanmıştır. Reovirus S4 genine dayanarak tavuk ve hindi orijinli virüsleri ayrı olarak tanımlanmıştır.

Çin’de yumurtacı tavuklar arasında yapılan bir seroprevalans çalışmasında ülkede aşılama olmamasından dolayı ELISA yöntemi ile bulunan antikör titrelerinin ARV enfeksiyonunun varlığını gösterdiği kabul edilmiştir. Araştırmada ARV’ye spesifik antikörler, farklı tavuk çiftliklerinden hayvanların % 92’sinden fazlasında pozitif olarak tespit edilmiştir (Juan ve ark 2008).

İran’da yapılan bir başka seroprevalans çalışmasında ise reovirusların İran’ın belli bir bölgesinde varlığının araştırılması amaçlanmış ve 1 yıl boyunca toplanan numuneler ELISA yöntemi ile test edilmiştir. Toplam 572 adet serumda %98,3 oranında pozitiflik bulunmuştur. Bu sonuç broiler piliçlerde antikör titresinin yüksekliğini göstermektedir (Bokaie ve ark 2008).

Türkiye’nin çeşitli yörelerindeki kanatlı işletmelerinde de yalnız veya miks enfeksiyon şeklinde seyreden çeşitli hastalık olgularında virüsün varlığı saptanmıştır (Çöven ve Çarlı 1997, Öztürk ve Çöven 1997).

Çöven ve Çarlı (1997), Manisa, İzmir, Bursa, İstanbul, Ankara ve Konya yörelerindeki klinik olarak Gumboro hastalığından şüpheli sürülerde enfeksiyöz bursal hastalığı virüsünün (IBDV) yanısıra olaya karışmış olduğu düşünülen reovirus, adenovirus ve Newcastle hastalığı virüsünü izole etmişlerdir. IBDV izolasyonu için 174 işletmeden alınan bursa Fabricius örneklerinin SPF embriyolu tavuk yumurtası (ETY) ve civeiv embriyo fibroblast (CEF) hücre kültüründe pasajları yapılmış olup, bu örneklerin 105’inden (%60,3) reovirus, 100’ünden (%57,4) adenovirus ve 86’sından (%49,4) Newcastle hastalığı virüsü izole edilmiştir. İnfeksiyöz bursal hastalığı virüsü 31 sürüde (%17,8) tek başına izole edilirken 50 sürüde (%28,7) diğer üç virüs ile birlikte izole edilmiştir.

Öztürk ve Çöven (1997), bir çalışmada, IBD’den şüpheli 4 ticari broiler işletmesinden alınan 30-36 günlük 81 adet tavuk incelenmiştir. İşletmelerin üçüne ait hayvanların bursa Fabricius (BF)’unda serotip 1 grubundan Reovirus ve IBDV varlığı saptanmıştır. Virüs izolasyonu yapılamayan 4. işletmeden alınan tavukların 9’unun BF’unda histopatolojik muayene ile *Cryptosporidium sp.* tespit edilmiştir. Reovirus ve

IBDV izolasyonu yapılan vakalarda BF ve pankreasda dejeneratif değişimler, *Cryptosporidium sp.* saptananlarda ise BF'un lenfoid folliküllerinde atrofi ve epitelde hiperplazi kaydedilmiştir.

Erol ve Şengül (2012) tarafından yapılan bir çalışmada, İzmir, Aydın ve Manisa illerindeki damızlık ve broiler yetiştiren tavukçuluk işletmelerinde, Avian Reovirus (ARV) enfeksiyonunun seroepidemiolojik durumu ticari Enzyme Linked İmmunosorbent Assay (ELISA) kullanılarak araştırılmıştır. Araştırmacılar ARV enfeksiyonuna karşı aşılammış 18 broiler ve 8 broiler damızlık kümesindeki tavuklardan alınan toplam 631 serum örneği ARV antikoları yönünden test etmişlerdir. Test edilen toplam 631 serum örneğinden 546'sı (%86,53) pozitif olarak kaydedilmiştir. Araştırmada, bütün kümeslerde ARV antikoları bulunmuş olup, damızlık broiler kümeslerinden toplanan 336 örneğin 322'si (%95,83) ve broiler kümeslerinden toplanan 295 örneğin 224'ü (%75,93) seropozitif olarak saptanmıştır. Örnekleme esnasında, damızlık sürülerde solunum ve topallık belirtilerine rastlanmazken, broiler kümeslerinin tamamında bu problemler gözlenmiştir. İllere göre seropozitiflik oranları İzmir, Aydın ve Manisa'da sırasıyla %91,48 (419 /458), %70,59 (36/51) ve %74,59 (91/122) olarak tespit edilmiştir. Araştırmacılar, Ege Bölgesi'ndeki özellikle broiler yetiştiricilerine kaynak teşkil eden damızlık sürülerde yüksek oranda yaygınlık gösterdiğini vurgulamışlardır.

1.4. Avian reovirus kaynaklı hastalıklar

Ticari kanatlılarda reovirus enfeksiyonları birçok çeşitli hastalık şekilleriyle ve formlarıyla ortaya çıkabilir (Jones 2003, Rosenberger ve Jones 2003). Tavuk ve hindilerde dışkı bulaşmış kloaka bulguları ve yüksek oranda ölümle seyreden barsak hastalıkları, ülseratif enteritis (Krauss ve Überschär 1966) respiratorik hastalıklar (Fahey ve Crawley 1954), broilerde hidroperikard, kalpte, böbrekte ve karaciğerde lezyon bulguları içeren ani ölümler gözlemlenebilir.

Reoviruslar tarafından oluşturulan hastalık tabloları tavuk ve hindilerde artrit/tenosinovitis, kazların enfeksiyöz miyokarditi ördeklerin reovirus enfeksiyonları tanımlanmıştır. Artrit/tenosinovitis en önemli hastalıktır. Bu hastalıkta tendo kılıflarının da katıldığı tarsometatarsal eklemlerde yangısal değişiklikler akut felçe neden olmaktadır (Van der Heide 1977, Rosenberger ve Jones 2003). Hastalık 4-5 haftalıktan küçük

hayvanlarda nadiren görülmektedir (Kibenge ve ark 1982, Rosenberger ve Jones 2003). Morbidite değişken olup, genelde %10'nun altında seyrederek, mortalite düşük orandadır. Hastalanan eklemler şişkin ve iltihaplıdır. Hastalığın ağır seyrinde gastrokinemius tendosunun rupturu ve eklem kırıkdağında defekt ortaya çıkabilmektedir. Her iki eklem hastalandığında hayvan hareket edememektedir. Gastrokinemius tendosunun rupturu, eklemler üzerindeki derinin yeşilimsi renk değiştirmesiyle kendini gösteren kanamalara neden olmaktadır (Kibenge ve ark 1982, Rosenberger ve Jones 2003). Yem alımının azalması ve gelişme geriliği özellikle felçli hayvanların yeme ulaşamaması nedeniyle olmaktadır. Bu durum ölümlere neden olmaktadır. Kesimhanelerde özellikle hastalanan eklemlerin görünümünün kötü olmasından kaynaklanan atıklar artmaktadır (Kibenge ve ark 1982, Rosenberger ve Jones 2003).

Ördeklerin enfeksiyöz miyokarditisi üç haftalık kadar olan genç ördek civcivlerinin salgın şeklinde seyreden bir hastalığıdır (Heffels-Redmann ve ark 1992). Hastalanan ördeklerin apati, yem alımının azalması, müköz sulu, yeşil beyaz ishal ile dikkati çekmektedir. Hayvanların kafa sallamaları, ibikten sulu ve sümüksel bir akıntının gelmesi dikkat çekici belirtileridir. Burun akıntısı ile birlikte gözyaşı akıntısı, hırıltılı solunuma ve apatiye sebep olmaktadır. Hayati organların etkilenmesi sonucu hemen hemen bütün hastalanan hayvanlar bazen birkaç gün, bazen de birkaç saat içerisinde ölmektedir. Morbidite %20-60 arasındadır ve hastalanan hayvanların hemen hemen hepsi ölmektedir (Heffels-Redmann ve ark 1992). Hayatta kalan birkaç civcivde gelişim geriliği gözlemlenmektedir. Üç haftalıktan büyük ördekler yaşa bağlı olarak gelişen dirençlilik yüzünden hastalanmamaktadırlar. Hastalık ördek yetiştirme ve ördek damızlık işletmelerinde yüksek oranda kayıplara ve buna bağlı olarak ekonomik zararlara yol açmaktadır (Heffels-Redmann ve ark 1992).

Ördeklerde ARV infeksiyonları az karakteristik klinik semptomlardan ölümlere kadar değişen hastalık tablosu meydana getirmektedir. Morbidite %30'dan %100'e kadar değişmekte olup, mortalite %10 ile %50 arasında seyretmektedir. Hayatta kalan genç hayvanlarda gelişmenin baskılanmasına neden olan önemli bir hastalığa yol açmaktadır (Heffels-Redmann ve ark 1992). Hastalanan hayvanlar iştahsızlık, aşırı susuzluk veya su içmeme, ishal, hareket etmede zorlanma veya isteksizlik görülmektedir. Bundan başka hastalanan hayvanların karaciğerinde dalak ve böbreklerinde nekrozlar şekillenmektedir. Hayatta kalan, iyileşen hayvanlar gelişme geriliği göstermektedir (Malkinson ve ark 1981).

1.4.1. Viral arthritis

1.4.1.1. İnkübasyon süresi ve patogenezi

İnkübasyon süresi virusun patotipine, konakçının yaşına ve bulaşma yoluna bağlı olarak değişmektedir (Jones ve Guneratne 1984). İnoküle edilmiş iki haftalık civcivler için inkübasyon süresi bir gün ile (ayak yastığından inokülasyon sonucu) 11 güne kadar (IM, IV ve intrasinüs inokülasyonu sonucu) değişmektedir. İntratrakeal inokülasyon ve virusa kontak olarak maruz kalma durumunda inkübasyon yaklaşık 9-13 gün sürmektedir (Olson ve Solomon 1968). Sıklıkla infeksiyonlar belirgin değildir. Sadece seroloji veya virus izolasyonu ile gösterilebilmektedir. Oral ve respiratorik yollarla inoküle edilmiş olan erişkin kanatlılarda virus tüm organlarda infeksiyondan 4 gün sonrasında tesbit edilebilmektedir. Virus izolasyonu sayısı 2 hafta içinde çok azalmaktadır. İnfeksiyondan 20 gün sonra ise virus bulunmamaktadır. Gros lezyonlar pek belirgin olmamakla birlikte virus sıklıkla pelvik eklem etrafındaki ekstensör ve fleksör tendolarda lokalize olmaktadır (Hieronymus 1983). Artrotropik bir virus (R2) ile bir günlük civcivlerin ayak yastığından inokülasyonu sonucunda infeksiyon, hem oral hem de subkutan veya artriküler yolla yapılan uygulamaya oranla daha hızlı ilerlemektedir (Ellis 1983). Doğada virus transmisyonu için daha fazla muhtemel görülen oral yolla enfekte olduğunda 2-12 saat içinde oluşan virus replikasyonunun başlangıç bölgesi intestinal epitel ve bursa Fabriciustur. Bunu virusun 24-48 saat içinde (Giambrone ve Solano 1988) diz eklemi de dahil birçok dokuya yayılması izlemektedir.

Birçok reovirus belirgin makroskopik lezyonlara yol açmadan dijital fleksör ve metatarsal ekstensör tendolarda mikroskopik yangısal reaksiyonlara neden olmaktadır. Doğal infeksiyon sonucu oluşan viral artrit, genellikle 4-7 haftalık tavuklarda görülür. Ancak daha yaşlı hayvanlarda da rastlanabilmektedir (Van der Heide 1977). Morbidite %100 kadar yüksek olabilmektedir. Mortalite genellikle % 6'nın altında olmaktadır. Virus tendolarda, varlığını 22 hafta kadar sürdürebilmektedir (Roessler ve Rosenberger 1989).

1.4.1.2. Klinik

Rosenberger ve Jones (2003)'un bildirdiğine göre akut infeksiyonlarda, topallık ve bazı hayvanlarda gelişme geriliği görülmektedir. Kronik infeksiyonlarda topallık daha

belirgindir ve enfekte olan hayvanların küçük bir yüzdesinde diz eklemi hareketsizleşmiştir. Enfeksiyöz sinovitis olarak teşhis konulan 36000 broilerlik bir sürüde ARV infeksiyonu hayvanların 3-4 haftalık olduğu 16 kümesin 8'inde görülmüştür. Yaklaşık 55 hayvan ölmüş veya 7-8 haftalıkken topallık nedeniyle elden çıkartılmıştır. 4500 hayvan ise gelişme geriliği göstermiştir.

15000 broilerlik bir başka sürüde ise viral arthritis/tenosinovitis'e özgü hiçbir klinik bulgu görülmemesine rağmen hayvanları % 5 kadarında kesimde gastroknemius bölgesinde veya dijital fleksör tendolarda genişleme görülmüştür. Bu sürüdeki hayvanlarda dokuz haftalık yaşta iken ortalama ağırlık sadece 3.66 Libre, yemden yararlanma ise %2,45, toplam mortalite %5 ve zorunlu imha oranı ise % 2,6 olmuştur. Toksemi şüpheli iki hayvandan virus izole edilmiş ve bu sürüden 80 adet serum numunesi alınmıştır. Presipitin testinde numunelerin %89'unda reovirus antikor tesbit edilmiştir. Bu görünmeyen bu infeksiyonun bu sürüdeki broilerlerin düşük performansının nedeni olabileceği düşünülmüştür (Fahey ve Crawley 1954). Özellikle erkek hayvanlarda (horozlar), 12-16 haftalık yaşlardaki gastroknemius tendosundaki yırtık, sıklıkla reovirus infeksiyonu ile ilişkili bulunmuştur (Fahey ve Crawley 1954, Giambrone ve ark 1991).

Benzer bir lezyona 5-8 haftalık hindilerde de rastlanmıştır (Page ve ark 1982). Bilateral tendo yırtıklarındaki tipik olan dengesiz yürüme hayvanın metatarsusu immobilize edememesinden kaynaklanmaktadır. Bu duruma genellikle damar yırtıkları eşlik etmektedir (Rosenberger ve Jones 2003).

1.4.1.3. Patoloji

1.4.1.3.1. Makroskopik lezyonlar

Doğal olarak enfekte olmuş hayvanlarda gros lezyonlar dijital fleksör ve metatarsal ekstensör tendoların şişkinliği ile görülmektedir. İkinci lezyon tüyler elimine edilerek diz üstünün palpe edilmesi ile belirgin bir şekilde hissedilmektedir.

Ayak yastığının ve diz eklemine şişmesine ise nadiren rastlanmaktadır. Diz eklemine genellikle saman rengi veya hafif kanlı bir eksudat, az sayıda vakada da enfeksiyöz sinovitistekine benzer şekilde, bir hayli fazla miktarda purulent eksudat

bulunmaktadır. İnfeksiyonun erken dönemlerinde tarsal ve metatarsal tendo kılıflarında belirgin ödem bulunmaktadır. Diz üstünde ki sinovial zarlarda peteşiyel kanamalar mevcuttur.

Tendo bölgelerindeki enflamasyon kronikleşme sonucunda tendo kılıflarının sertleşmesi ve füzyonu ile karakterizedir. Distal tibiotarsusun eklem kıkırdağında küçük çukur erozyonlar bulunmaktadır. Bu erozyonlar genişleyip birleşerek kemiğe doğru nüfuz etmektedir. Kıkırdak yüzeyinde fibrokartilajönöz pannus aşırı büyümesi görülmektedir. Kondiluslar ve epikondiluslar sıklıkla işe karışmaktadırlar (Kerr ve Olson 1969). İnokülasyon yapılan hayvanlarda, hasta taraftaki proksimal metatarus diafiz de etkilenmiş ve büyümüştür.

1.4.1.3.2. Histopatoloji

Histopatolojik değişimler Kerr ve Olson (1969) tarafından tanımlanmıştır. Genel olarak deneysel infeksiyonlar ile doğal infeksiyonlardaki histopatolojik bulgular benzerdir. Akut faz esnasında (ayak yastığına inokülasyondan 7-15 gün sonra) ödem, koagülasyon nekrozu, heterofil akümüasyonu ve perivasküler infiltrasyon görülmektedir. Ayrıca sinoviyal hücrelerin hipertrofisi ve hiperplazisi, lenfositler ve makrofajların infiltrasyonu ve retiküler hücrelerin proliferasyonu mevcuttur. Bu son lezyonlar tendon kılıflarının viseral ve parietal katmanlarının belirgin şekilde kalınlaşmasına neden olmaktadır. Sinovial kavite heterofiller, makrofajlar ve zarı soyulmuş sinovial hücrelerle doludur. Osteoklastların arttığı bir periostit mevcuttur.

Kronik fazda (infeksiyondan sonraki 15. günden başlayarak) sinovial membranda villöz çıkıntılar gelişir ve lenfoid nodüller görülür. Enflamatuvar değişiklikler 30 gün sonra kronik hale gelir. Fibröz konnektif doku miktarında artış ve belirgin olan retiküler hücreler, lenfositler, makrofajlar ve plazma hücrelerinin infiltrasyonu veya proliferasyonu görülebilir (Kerr ve Olson 1969).

Aynı genel enflamatuvar değişiklikler, tarsometatarsal ve diz eklemi bölgelerinde de görülmektedir. Etkilenen taraftaki tendoda sesamoid kemik gelişimi sınırlıdır. Bazı tendolar tamamen düzensiz granülasyon dokusu ve sinovial membran üstündeki büyük villuslarla kaplanmıştır. İnfeksiyondan 54 gün sonrasında oral yoldan etkilenen hayvanlar tendo kılıflarında kronik fibroz ile birlikte fibröz dokunun tendoları işgal ettiği ve ankiloz

ve hareketsizlikle sonuçlandığı görülmektedir. Proksimal tarsometatarsal kemiklerdeki kırıkta hücrelerinin lineer büyümesi az ve düzensiz olmaktadır. Diz eklem kırıktaındaki erozyona granülasyon pannusu eşlik etmektedir. Osteoblastlar aktif hale gelmiş ve erozyonun altında kemiğin kalınlaşmış tabakasına kadar yayılmışlardır. Kondiluslarda, epikondiluslarda ve aksesör tibiada osteoblastik aktivite bulunmaktadır. İnfeksiyon osteoneogenezise ve sonunda da exostoza (kemik tümörü) neden olmaktadır (Goodwin ve ark 1993a).

Oral yoldan bir günlük reovirusla enfekte olan broilerin gastrocnemius tendosu ve tendo kılıfı fibroblastlarında sitoplazmik vakuolizasyonunu, membran yırtılmasını, endoplazmik retikulumdan ribozom kaybını, generalize hücresel ve mitokondrial çatlamları kapsayan dejeneratif değişikliklerle karakterizedir (Hill ve ark 1989).

Kalpde bulunan lezyonlar detayları ile bildirilmiştir (Hill ve ark 1989). Miyokardial iplikçikler arasına olan heterofil infiltrasyonu sabit bulgudur.

Prolifere olan mononükleer hücrelere muhtemelen retiküler hücreler de eşlik etmektedir. Avian reovirusun günlük yaştaki civcivlerdeki patojenitesi birçok suş için artrojenik potansiyeli ve belirgin karaciğer nekrozunu ortaya çıkartmıştır. Eritrosit, hematokrit ve total lökosit değerleri, heterofil oranında bir artış ve lenfosit yüzdesinde bir düşüş görülebilmemesine rağmen genellikle normal sınırlar içinde bulunmuştur (Gouvea ve Schnitzer 1982).

1.4.2. Malabsorbsiyon sendromu

1980'li yıllardan itibaren özellikle broiler çiftliklerinde Malabsorbsiyon Sendrom, Runting/Stunting sendromu (gelişme geriliği/ cücelik), Helikopter Hastalığı, Brittle Bone Disease (kırılgan kemik sendromu) veya Pale Bird Sendromu (solgun kanatlı sendromu) gibi çeşitli adlar kullanılan bir hastalık kompleksi ortaya çıkmıştır. Bu durum çiftliklerdeki tavukların belirgin olarak gelişme farklılıkları göstermesi ve ağırlık kazancında ciddi anlamda düşüklükler ile dikkati çekmiştir. Hayvanlar altlıkları yemekte ve kloakaları kirli bir vaziyettedir (Goodwin ve ark 1993a). Dışkıda sindirilmemiş yemler bulunmaktadır. Sarımsı turuncu renkte, mukoid dışkı gözlemlenmektedir (Goodwin ve ark 1993b). Birçok hayvanda abdomen şişkinliği bulunur ve mortalite oranı da bazen yüksek olabilmektedir.

Osteoporoz da ortaya çıkabilir. Tüy değişimi gecikmekte olup, düzensiz bir tüylenme gözlenmektedir (Goodwin ve ark1993b, Kouwenhoven ve ark 1988). Hayvanlar solgun, çok az pigmente görünmektedir (Goodwin ve ark1993b).

Kesim için hayvanlar dinlenmeye alınsa da hala düşük ağırlığa sahip olup ona bağlı olarak büyük ekonomik kayıp meydana gelmektedir.

1.4.2.1. Etiyoloji

Hasta hayvanların barsak homejanatlarının oral yolla deneysel hayvanlara verilmesi ile hastalık deneysel olarak oluşturulabilmektedir (Apple ve ark 1991, Kouwenhoven ve ark 1988, Montgomery ve ark 1997). Fakat hastalık farklı şiddette görülebilmektedir. Ancak hastalığın durumu için asıl sorumlu olan etkenin hangisi olduğu tartışılmaktadır. Hasta hayvanların barsak homejenizatlarında birçok bakteri ve virus bulunmuştur. Her ne kadar kesin olarak belirlenmiş olmasa da adenoviruslar (Apple ve ark 1991), avian nefritis virusu (Goodwin ve ark 1993b, Reece ve Frazier 1990), Enterovirus-612 (Goodwin ve ark 1993b), enfeksiyöz bursitis virusu (IBV) (Montgomery ve ark 1997), bakteriyofajlar (Montgomery ve ark 1997), enterovirus benzeri partiküller (Frazier ve Reece 1990), enterokoklar, Reece ve Frazier 1990), *Stafilokokkus cohnii ssp urealyticum* (Montgomery ve ark 1997), *Bacillus licheniformis* (Montgomery ve ark 1997) , çeşitli *E. coli* suşları (Montgomery ve ark 1997, Songserm ve ark 2002), *Proteus mirabilis* (Montgomery ve ark 1997), klostridiumlar (Montgomery ve ark 1997, Reece ve Frazier 1990), *Bacteroides fragilis* (Montgomery ve ark 1997) ve protozoonların (Goodwin ve ark 1993b) sendroma katılan nedenler arasında olduğu iddia edilmektedir. Fakat tespit edilen bakterilerin çoğunlukla normal barsak florasında bulunduğu kabul edilmektedir. Aynı şekilde bakteriyofajların da patojen olmadığı varsayılmaktadır (Montgomery ve ark 1997). Reoviruslar çok sık olarak bulunmuş veya izole edilmişlerdir (Goodwin ve ark 1993b, Goodwin ve ark 1993a, Reece ve Frazier 1990). Ancak hayvan deneylerinde, reovirus izolatları çoğunlukla ağırlık artışında gecikmeye ve barsak problemlerine neden olmuştur. Fakat genel olarak sendromun tüm özellikleri gözlenmemiştir (Kouwenhoven ve ark 1988, Rekik ve ark 1991, Montgomery ve ark 1997, Tang ve ark 1987).

Polonya kökenli enterik reovirus suşları grubu içinde sınıflandırılan bir izolatın malabsorbsiyon sendromunu indüklediği bildirilmiştir (Van Loon ve ark 2001). Diğer deneylerde; ne bakterilerin ne de Avian nefritis virusunun ve Chicken Anemi (CA) virusunun malabsorbsiyon sendromunu tamamen indükte etmediği görülmüştür. Çalışmalarda bu ajanları etkilerinin reovirustan daha az olduğu saptanmıştır (Reece ve Frazier 1990). Enterovirus benzeri partiküllerine ağır zararların olmadığı vakaların çeşitli barsak homojenizatlarında rastlanmıştır. Muhtemelen bu sendroma çeşitli faktörler katılmakta ve reoviruslar burada tetikleyici rol oynamaktadırlar. Bazı yüksek patojen olan izolatlar da tek başlarına ağır barsak hasarlarına neden olabilmektedir (Shirai ve ark 1990).

1.4.2.2. Patoloji

Hastalanan hayvanların çeşitli organlarında değişiklikler bulunmaktadır. Barsak uzunlukları sağlıklı hayvanlarınkinden daha uzundur (Reece ve Frazier 1990). Barsaklar kısmi olarak sindirilmemiş yem ve sarımsı, turuncu mukus içermektedir (Goodwin ve ark 1993b). İnce barsaklar solgun, çeperleri şişmiştir (Goodwin ve ark 1993b, Rudas ve ark 1986). İnce ve körbarsaklar sık sık sulu içerikle doludur (Goodwin ve ark 1993a). Proventriküller mide büyümüş ve ödemlidir. Karaciğer ve dalak rengini kaybetmiştir ve yangısel ve nekrotik değişimler gözlemlenmektedir (Gooß 2008). Safra kesesi genişlemiştir (Goodwin ve ark 1993b). Pankreasta kısmi olarak ince loblar görülür ve sağlıklı olanlarınkinden daha küçüktür (Reece ve Frazier 1990). Çeşitli kemik değişimleri ortaya çıkabilmektedir. Femur başı nekrozu, femur boynu kırığı, tibianın diskondroplazisi, sternumda eğrilik ortaya çıkabilmektedir.

1.4.2.2.1. Histopatoloji

En karakteristik değişiklikler ince barsaklarda, özellikle jejunum ve ileumda bulunur. Barsak villusları atrofik, kısa ve birbirine yapışık olabilmektedir (Goodwin ve ark 1993b, Goodwin ve ark 1993a, Kouwenhoven ve ark 1988, Reece ve Frazier 1990). Enterositler kısmi olarak vakuoler dejenerasyonla kaybolur ve sitoplazmik inklüzyon cisimcikleri ve sitoplazmada vakuoller görülmektedir (Kouwenhoven ve ark 1988). Lamina propriada fibroblastlar CD8+-T-hücreleri (sitotoksik T hücreleri) , diğer lenfositler ve heterofil granülositlerin sayısı artmıştır (Frazier ve Reece 1990, Reece ve Frazier 1990). Lieberkühn kripleri dilate olmuş (Goodwin ve ark 1993b, Montgomery ve ark 1997),

derinleşmiş ve kistik değişime uğramıştır (Frazier ve Reece 1990). Kript epitelleri hiperplaziktir (Songserm ve ark 2002, Songserm ve ark 2000). Kısmi olarak yuvarlaklaşma ile karakterize dejenerasyonlar göstermektedir (Goodwin ve ark 1993a). Birçok enteroepitel lökositler aralarda bulunmaktadır (Goodwin ve ark 1993b, Goodwin ve ark 1993a). Kriptlerin lumenleri ve barsak lumeni ile teması olmayan kistlerin içleri (Reece ve Frazier 1990); yangı dökülen dejenere ve nekrotik epitel hücreleri ile, mukopolisakaritler ve hücre döküntüleri ile doludur (Frazier ve Reece 1990, Goodwin ve ark 1993b, Goodwin ve ark 1993a, Kouwenhoven ve ark 1988, Reece ve Frazier 1990). Lieberkühn kriptlerindeki küçük kistler epitel hücrelerle, miyofibroblastlara çevrilidir fakat bazal membran bulunmamaktadır (Frazier ve Reece 1990). Büyük kistler ise bazal membranı olan, kübik, dökülmüş epitel hücreleri ve fibroblastlar, kollajen iplikçikleri içermektedir (Frazier ve Reece 1990, Reece ve Frazier 1990). Daha sonra kriptler tamamen kaybolmaktadır. İnfeksiyonda yaklaşık 2 hafta sonra barsak dokusu kendini yenilemektedir (Kouwenhoven ve ark 1988). Proventrikülde dejenere, kistik bezler ve yangısel hücrelerin infiltrasyonları bulunur. Karaciğer centralobüler nekroz odakları içermektedir (Goodwin ve ark 1993b). Safra kanalı hiperplastiktir (Goodwin ve ark 1993b).

İnfeksiyonda perikolangitis bulunan belirtiler arasındadır. Böbrek ve pankreasta lenfositlerin intersitsiyel infiltratları gözlenmektedir (Kouwenhoven ve ark 1988, Montgomery ve ark 1997). Asinüs hücreleri nekrotiktir ve asini lümeni genişlemiştir. Fibroplazi ortaya çıkabilir ve pancreas bezleri kaybolmuştur. Pankreas değişiklikleri herşeyden önce salgınlarda sahada rastlanmakta fakat deneysel infeksiyonlarda nadiren gözlenmektedir. Bursa fabrici'de lenf dokusu gerilemiş ve yerini bağ dokusu almıştır. Timusta da aynı olay gerçekleşmiştir. Kemik iliğinde dejenere hücreler ve hücre kalıntıları bulunmaktadır (Reece ve Frazier 1990). Düzensiz gelişen tüylerin pulpasında heterofil granulosit ve makrofajlar artmıştır. Paratiroid hipertroftiktir (Reece ve Frazier 1990). Tibiatarsus'ta osteodistrofi ortaya çıkabilmektedir.

1.4.3. Enterik reovirus suşları

Van Loon ve ark (2001) tarafından 2001 yılında reovirusların enterik reovirus suşu (ERS) olarak isimlendirilen eni bir enteropatojen türünü izole etmişlerdir. Virusun izole edildiği broilerlerin elde edildiği damızlık işletmelerinin bu suşa karşı yapılan aşılamalara rağmen %100 yakın mortalite görülebilmektedir.

Hayvanların hidroperikard, karaciğer ve dalaklarında şişme görülmektedir. Patojenite ve SPF tavuklarda yayılma üzerine yapılan araştırmalar, ERS suşunu yüksek mortalite MAS ve tenosinovitise yol açtığını göstermiştir.

Maternal antikora sahip bir günlük broiler civcivleri veya 7 günlük broilerlerde enfekte edilmemiş grubuna nazaran, % 25 ila % 35 oranında gelişme geriliği kaydedilmiştir (Van Loon ve ark 2001). ERS suşu plak redüksiyon testinde bilinen reoviruslara karşı ouşturulmuş antiserumlarla nötralize edilmeyen yeni bir reovirus serotipi olarak tanımlanmıştır. Ek olarak bu suşun, immunfloresans testinde monoklonal antikolar aracılığı ile reovirus prototip suşları S1133, 1733 ve bilinen çeşitli reovirus izolatları ile karşılaştırılması sonucu farklı bir yapıya sahip olduğu görülmüştür (Van Loon ve ark 2001).

Polonya'da 1999 yılında çıkan salgında SPF tavuklarında merkezi sinir sistemi semptomlarına yol açan ikinci ERS suşu izole edilmiştir (Van de Zande ve Kuhn 2007). ABD'de ilk kez ERS varyantları ortaya çıkmış olup bu viruslar MAS, artritis / tenosinovitis ve ayrıca kafa sallama, tremor ve tortikolis gibi merkezi sinir sistemi semptomlarına yol açtığı gözlenmiştir. Hollanda, Belçika, İngiltere, İspanya, Almanya, İtalya, ABD, Arjantin, Birleşik Arap emirlikleri, Güney Afrika Cumhuriyeti, Filipinler ve Endonezya'da monoklonal antikolarla reaksiyondan dolayı ERS tip olarak sınıflandırılan reoviruslar izole edilmiştir. Bu izolatlar çoğunlukla MAS'lu broilerlerden köken almaktadır (Van Loon ve ark 2001).

1.5. Immunité

Avian reovirusları, jel difüzyon tekniği ile ortaya koyulabilen grup spesifik antijene ve plak-redüksiyonunda antikor nötralizasyonu ile gösterilebilen bir serotipspecific antijene sahiptirler (Jones ve Guneratne 1984). Nötralizan antikorlar infeksiyonu takibeden 7-10 gün içinde ve presipitan antikorlar da yaklaşık 2 hafta kadar saptanabilmektedir. Nötralizan antikorların presipitan antikora göre daha uzun süre kaldığı görülmektedir ancak deney duyarlılığı ile de ilgili olabilmektedir. Kanlarında yüksek düzeyde antikor taşıyan hayvanlarda infeksiyon kalıcı olabildiği için antikorların korunma oluşturmadaki yerleri tam olarak anlaşılammıştır (Giambrone ve ark 1992). Ancak maternal antikoların 1 günlük yaştaki civcivlerde doğal veya deneysel infeksiyonlara karşı belirli bir koruma

sağladığı kesindir. Antikorların sağladığı görelî koruma serotip homojenliğine, virus virulansına ve konakçı yaşı ile antikor titresine bağılı görünmektedir (Jones ve El-Taher 1986, Montgomery ve ark 1986). Yaşamlarının ilk gününde meydana gelen enfeksiyona karşı oluşan in vivo immunité ile in vitro yapılan nötralizasyon reaksiyonu arasında bir korelasyon bulunmaktadır.

Reovirusların patojenik potansiyellerini ve reovirusun yayılmasını sınırlamada önemli olabilecek intestinal IgA indüksiyonu, virusa maruz kalma yolu, yaşı ve tripsine duyarlılık ile ilgilidir (Jones 2003).

Tripsine duyarlı bir reovirusla oral yoldan enfekte edilmiş bir günlük civcivlerde saptanabilen miktarda intestinal IgA yanıtına rastlanmamıştır. İn vitro ve in vivo olarak avian reoviruslar tarafından interferon üretildiğı ortaya koyulmuştur. S1133 attenüe suşu civciv embryo hücre kültürlerinde interferonu indüklemiş ve in vivo olarak interferon diğér dokularda değıl ama akciğérlerde saptanabilmiştir (Chandran ve Nibert 2003, Mukiibi-Muka ve Jones 1999). Daha patojen bir reovirus (Chandran ve Nibert 2003) ile serum numunelerinde saptanabilecek kadar interferon ortaya çıktığı görülmüştür. Reovirusla enfekte hayvanlarda, T hücrelerinin işe karıştığı immunitenin Siklosporin A tarafından supresyonunun mortaliteyi artırdığı ancak tendo lezyonlarının görelî şiddetinin değışmediğı bildirilmiştir. Avian reoviruslar immunsupresif olarak tanımlanmaktadırlar. ARV enfeksiyonu, hem humoral immun yanıtı hem de T hücreleri cevabını etkilemektedir (Sharma ve Karaca 1994).

1.6. Teşhis

Klinik ve patolojik semptomların MAS'da patognomik olmaması dolayısı ile, Koksidiyoz, bakteriyel enfeksiyonlar gibi sindirim sisteminin hastalıklarından, vitamin E, D, veya A eksiklikleri selen ve mineral eksikliklerinden ayırt edilmelidir. Hastalık enfeksiyöz bursitis, civcivlerin enfeksiyöz anemisi ya da retiküloendoteliyoz ile de karışabilmektedir.

Viral artitisin muhtemel teşhisi lezyonlar ve bulgulara dayandırılabilir. Başlıca, metatarsal ekstensör ve dijital fleksör tendoların ve kalpteki heterofil infiltrasyonunu işe karışması enfeksiyonun bakteriyel veya mikoplazmal sinovitisten

ayırıldılmesine yardımcı olmaktadır. ARV infeksiyonunda klinik semptomların değişken olması dolayısıyla, teşhis virusun direkt olarak tespitiyle ve indirek serolojik teşhis yöntemleriyle desteklenmesi gerekmektedir (Gooß, 2008).

1.6.1. İnfeksiyon etkeninin izolasyonu ve tanınması

1.6.1.1. Virus izolasyonu

ARV'ların izolasyonu tavuk embriyosunun karaciğeri (TEK), fibroblastları, akciğeri, testisleri ve tavuk civciv böbreklerinden elde edilen primer hücre kültürlerinde (HK) üretilebilmektedir. Tavuk embriyosu karaciğeri ve böbrekler virus için en duyarlı HK'dür. Tavuk embriyofibroblast hücreleri ise virus izolasyonu için en az uygun olan HK'dür .

Virus plaklar şeklinde üremekte ve üreme esnasında CPE oluşturmaktadır. İlk CPE belirtileri sitoplazmada vakuolizasyon ve sinsityal dev hücrelerinin oluşumuna neden olan hücre füzyonudur. İnokulasyon dozuna ve hücre kültürü çeşidine bağlı olarak CPE en erken infeksiyondan 12 saat sonra ortaya çıkmaktadır. Daha sonra odaklar şeklinde hücre yığınları oluşmaktadır. Bu odaklar zamanla çözülür ve yerlerinde büyük boşluklar kalmaktadır. Hücre çeşidi virusun titresini etkileyebilmektedir. En kısa zamanda en yüksek virus titresi TEK hücre kültüründe elde edilmektedir. Bazen memeli hücre kültüründe virusu izole edebilmek için CPE oluşuncaya kadar birçok kör pasajın yapılması gerekmektedir. Bu şekilde virusun HK'e adaptasyonu sağlanmış olmaktadır (Sahu ve Olson 1975). Virusun adaptasyonu sonrasında CER (chicken embryo rough) veya LMH (leghorn male hepatocytes) gibi permanent hücre hatlarında da çoğaltılabilmektedir (Heggen-Peay ve ark 2002).

Embriyolu Tavuk yumurtasında yumurta sarısına ekimi sonucu, virusun patojenitesine ve inokulasyon dozuna bağlı olarak iki ile 10 gün içerisinde embriyo ölümleri gözlenmektedir. Patolojik olarak hemorajiler, ödemler, karaciğer nekrozları ve bazen gelişmeme gözlenmektedir. Allantoik boşluğa ekim sonucu bütün embriyolar ölmemektedir. Ölen embriyolarda karaciğer ve dalak şişmeleri, kalp ve karaciğerde nekrozlar kısmi olarak ödemler ve gelişim geriliği gözlenmektedir (Glass ve ark 1973).

Virus, Chorioallantoik membrana (CAM) ekimden sonra odak şeklinde granülleşmeler, grimsi poksvirus benzeri alanlar ve ödem ortaya çıkmaktadır (Fahey ve Crawley 1954, Glass ve ark 1973). Ne HK'de ne de ETY'deki değişiklikler patognomik değildir (Heffels-Redmann ve ark 1992).

Etkilenmiş bir eklemden elde edilmiş olan bir reovirusun görelî patojenitesi duyarlı bir günlük civcivlerin ayak yastıkçığına inokülasyonla teyid edilebilmiştir. Patojen ise, virus inokülasyondan 72 saat sonra ayak yastıkçığında ileri bir enflamasyona yol açmaktadır Jones ve Guneratne 1984).

1.6.1.2. Virusun direk tespiti ve identifikasyonu

Virusun direkt olarak ultra ince organ kesitlerinden direkt veya virus izolasyonu sonrasında elektron mikroskopta virus partikülleri negatif kontrast yöntemiyle görüntülenebilir (Van der Heide ve ark 1981, Lozano ve ark 1992, Yu ve ark 2000).

Reoviruslar diğer virüslardan tipik fizikokimyasal karakteristikleri ve Agar Gel Precipitation Testi (AGPT) ile gösterilebilen bir grup spesifik antijenin varlığı ile kolayca ayırt edilebilmektedir. Antijenin hazırlanması için 9-11 günlük yaştaki embriyolu civiv yumurtaları CAM'a inoküle edilmekte ve inokülasyondan 7 gün sonra ölü veya etkilenmiş embriyolardan CAM'lar toplanmaktadır. Toplanan CAM'lar homojenize edilir ve antijen olarak kullanılmaktadır (Ide ve Dewitt 1979).

Agar Gel Precipitation Testi (AGPT) vasıtasıyla ARV grup spesifik antijenleri, pozitif serumlarla saptanabilmektedir, ancak bu testte görülecek olan presipitat çizgilerinin yeterince belirgin olabilmesi için teşhis materyali içerisinde yoğun miktarda antijen ve yüksek antikor titresinin bulunması gerekmektedir. AGPT etkilenmiş sürülerde antikor durumunun saptanmasında da kullanılabilir (Van der Heide ve ark 1974).

İndirekt İmmunfloresan testi (IIFT) ile poliklonal antikorların kullanılması ile ARV'ların grupspesifik antijenleri tespit edilebilmektedir. Bu test AGPT'den daha duyarlıdır (Walker ve ark 1972). Floresan antikor teknikleri ile tendo kılıflarındaki reovirusların gösterilmesi veya civciv embriyolarından veya civciv embriyo karaciğer

hücrelerinden virus izolasyonu yapılması sonrasında ARV'nin identifikasyonu amacıyla kullanılmaktadır (Jones ve Guneratne 1984, Martínez-Costas ve ark 2000).

Reovirus proteinleri veya nükleik asitleri; formalin ile fikse edilmiş dokularda immunoperoksidaz prosedürleri; immunohistokimya uygulanabilmektedir (Mallo ve ark 1991). Bu metodlar, spesifik ARV izolatları üzerine etiyolojik ve patolojik bilgiler elde etmeye yardımcı olabilmektedir.

ARV spesifik proteinler Dot blot, western blot teknikleri ile tespit edilebilmektedir (Yin ve Lee 1998). Virusun direkt tespitinde kullanılan diğer bir metot viral RNA'nın saptanması esasına dayanan Northern blot metodudur. Bu metodda viral RNA elektroforetik olarak ayrıldıktan sonra bir membran üzerine aktarılmakta ve RNA sondaları ile tespit edilmektedir (Chiu ve Lee 1997).

Avian reovirusun tespiti, identifikasyon amacıyla moleküler yöntemler viral nükleik asitlerin tespiti amacıyla Revers Transkriptaz-Polimeraz-Zincir-Reaksiyonu (RT-PCR), Southern blot, Restriksiyon Enzimi Analizi (REA), sekans (dizi) analizi sıklıkla kullanılmaktadır. RT-PCR viral RNA'nın tespitinde kullanılan hızlı ve duyarlı bir metoddur. RT-PCR sıklık REA ve dizi analizi ile kombine halde ARV'ların karakterizasyonu ve genotiplendirmesi için kullanılmaktadır (Lee ve ark 1998).

1.6.2. İndirekt teşhis

Reovirus grup spesifik antikorları AGPT, indirekt immunfloresan testi (IIF) ve western blot ile kolayca saptanabilmektedir (Ide ve Dewitt 1979; Endo-Munoz 1990). İndirekt immunfloresan testi daha duyarlıdır bu nedenle de kantitatif değerlendirmelerde daha uygundur. Primer TEK hücre kültürlerinde veya birkaç hücre hattında Plak Redüksiyon Testi (PRT) ve virus nötralizasyon testi (NT) rutin olarak antikor tespiti amacıyla kullanılmaktadır.

Serotiplerin ve serotipspezifik antikorların tespit edilmesi amacıyla PRT ve NT kullanılmaktadır. Ayrıca ARV viruslarının ve izolatlarının serotipinin belirlenmesi amacıyla PRT ve NT yanında, tavşan veya tavuk antiserumu ve monoklonal antikorlar kullanılarak IIFT yapılabilmektedir (González-López ve ark 2003, Montgomery ve ark

1986, Munro ve ark 1973). Birkaç serotip tanımlanmış olmasına rağmen reovirus izolatları arasında bir hayli homojenlik mevcuttur ki bundan dolayı da farklı serotip olarak değil antijenik alttipler olarak sınıflandırma yapılmaktadır.

Slaght ve ark (1978) avian reovirus antikorlarını saptamada Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) testini bildiren ilk araştırmacılarıdır. S1133 suşu antijen olarak kullanılmış ve Reo-25 ve WVU-2937 izolatlarına karşı reaksiyon gösterdikleri saptanmıştır. ELISA ile ARV'ların grup spesifik antikorları saptanmıştır. Bu test AGPT veya IIFT gibi antikor tespitinde kullanılan testlerden daha duyarlı, relatif daha ucuz, daha basit ve hızlıdır (Slaght ve ark 1978, Adair ve ark 1987). Günümüzde sürü bazında reovirus antikor düzeylerinin değerlendirilmesinde uygun olan ticari ELISA kitleri bulunmaktadır.

1.7. Korunma ve kontrol

Avian reovirusların her yerde bulunabilme özelliği ve kalıtsal stabiliteyi, modern ve yoğun yetiştirme teknikleri virusa maruz kalmanın önlenmesini çok zor kılmaktadır. Virus hem vertikal hem de horizontal olarak bulaşabilmektedir. İnaktivasyona karşı dirençlidir ve mekanik yollarla da taşınabilmektedir. İşletmeden enfekte sürü çıkarıldıktan sonra yapılan iyi bir kümes temizliği, daha sonraki sürülerde patojen virus infeksiyonunu önlemede etkili olabilmektedir. Avian reovirusların relatif dirençli olmalarından dolayı ticari olarak bulunabilen dezenfektanların etkinlikleri kullanmadan önce teyid edilmelidir. Dezenfeksiyon için %0,5'lik organik iyod solusyonları etkili kimyasal olarak bildirilmektedir. Patojen reoviruslara en çok bir günlük civcivler duyarlıdırlar. Daha sonra 2 haftalığa kadar yaşa bağlı direnç gelişimi gerçekleşmektedir. Aşılama programları doğrudan hayvanların duyarlı olduğu bu dönemde korumayı hedeflemektedir (Rosenberger ve Jones 2003).

Malabsorbsiyon sendromu görülen çiftliklerde aşılama yanında, hijyenik önlemler ve sekonder infeksiyonlarla mücadele bu konuda önemli bir noktadır. Birçok vakada A, D ve E vitaminlerinin içme sularına katılması hastalığın gidişatını hafifletebilmektedir (Jones 2000).

1.8. Aşılama

Attenüe canlı aşilar, bugün için prototip kabul edilen aşı suşu S1133 ile ilk defa 1983 yılında geliştirilmiştir. Bu suş fibroblastlar üzerinde 65-32 C°'de gerçekleşen 100 hücre pasajı veya 235 yumurta pasajı ile hazırlanmıştır. Bu aşı tenosinovitise karşı koruma amacıyla geliştirilmiştir (Van der Heide ve ark 1983). Zaman içinde başka attenüe aşilar da geliştirilmiştir. S1133 suşunun 73. veya 175. yumurta pasajı ile yapılan deneyde, aşı hayvanlara göze damlatma veya içme suyuna karıştırılarak uygulanmıştır. Fakat aşılama sonucu yumurtadan çıkan civcivlerin challenge enfeksiyona (tekrarlanan enfeksiyona) karşı korunmadığı gözlenmiştir. Deneysel bir çalışmada 4 adet modifiye canlı aşı kullanılmış, bu aşıardan 3 tanesinin uygulandığı bir günlük civcivlerin tendolarında aşı virusu devamlı izole edilebilmiştir. Fakat bir haftalık hayvanların aşılama sonrasında virusa rastlanmamıştır. Bütün gruplarda çalenc enfeksiyon sonrasında virus izole edilmiştir (Montgomery ve Maslin 1988).

Embriyolu tavuk yumurtalarının canlı aşı ile aşılama da denenmiştir. Genç civcivlerin ölüm oranı % 17 civarında olmuştur. Yaşayan civcivlerin challenge enfeksiyona karşı korunması % 70 olarak tespit edilmiştir. In ovo uygulanan antikor kompleks virus aşısı + antiserum kombinasyonları yardımıyla ile yapılan çalışmalar, daha düşük ölüm oranları (% 3,7) ile sonuçlanmıştır. Reovirus + antikor kompleks aşılarının SPF broiler embriolarına in ovo yolla verilmesinin güvenli ve etkin olduğu görülmüştür (Guo ve ark 2003).

İnaktif yağlı emülsiyon aşı broiler damızlıklarında kullanılmış, yüksek ve tek düze antikor titresini elde edilmiştir. Bu aşılama ağırlık artışını da pozitif yönde etkilemiş olup, üretim harcamalarını ve kesim esnasındaki kayıpları azaltmıştır. Damızlıkları, bir canlı ve bir inaktif S1133 aşısının kombine edilmesi ile yapılan bir deneysel çalışmada aşılama ile elde edilen döllerde hem homolog hem de heterolog suşlarla yapılan challenge enfeksiyonlarda klinik semptomlar ve ölümler önlenmiştir. Fakat çapraz koruma derecesinin farklı olduğu gözlenmiştir (Wood ve ark 1986). Ticari inaktif aşı ile canlı aşının karşılaştırılmasında antikor titresinin sadece inaktif aşı ile uygun derecede arttığı görülmüştür. Canlı aşı uygulanan damızlık hayvanlarda, aşılama sonrası 14. güne kadar ishal, 2. ve 4. haftalarda ise yumurta kabuğu kalitesinde düşme ve embriyonal mortalitede artış gözlenmiştir. Yavrularda yutma gücünü saptanmıştır. İnaktif aşı ile aşılama

hayvanların yavruları ile canlı aşı ile aşılananların yavrularında serokonversiyon oluşmuştur (Giambrone ve ark 1991).

σ C proteini ile hazırlanan rekombinant ARV aşısı oral yoldan, birer hafta ara ile 3 kez verilmiştir. Sonuç olarak 125 μ g protein σ C / baş ile % 64 koruma ve 250 μ g protein σ C / baş ile ise % 91 koruma sağlandığı görülmüştür (Wu ve ark 2005).

Aktif bağışıklık SC yolla uygulanan canlı attenüe bir reovirus aşısı ile elde edilebilmesine rağmen (Montgomery ve Maslin 1988), kaba sprey tarzında uygulanan aşılar da kullanılmaktadır.

ARV prototipi S1133'ten üretilmiş reovirus canlı aşıları koruma gösterilebilmektedir ancak Marek aşısı ile aynı anda uygulanırlarsa interferens göstermektedir (Kawamura ve ark 1965, Krauss ve Überschär 1966). İnterferens en iyi hindi herpesvirusundan (HVT) elde edilen Marek aşıları ile ortaya çıkmaktadır (Kawamura ve ark 1965). ABD'de izole edilmiş olan (Kaji ve ark 1970) doğal olarak apatojen olan bir suştan elde edilmiş bir reovirus aşısı, diğer S1133 türevlerine göre (Montgomery ve Maslin 1991) bir günlük civcive marek aşısı ile aynı anda uygulama daha uygun olabilmektedir. Eğer marek aşı titreleri düşükse ve/veya devam eden bir virus enfeksiyonu varsa aşı dikkatli kullanılmalıdır. Damızlıklardaki reovirus aşılama yöntemleri canlı ya da ölü aşılarla veya bunların kombinasyonu ile yapılabilmektedir (Menendez ve ark 1975b, Mukiibi-Muka ve Jones 1999). Canlı bir aşı kullanılacaksa aşı virusunun transovarian yolla geçmesini önlemek için yumurtlama başlamadan önce uygulanmalıdır. Bu tip bağışıklama programının avantajları arasında, bir günlük yavrularda maternal antikolar yoluyla derhal koruma sağlanması ve ekonomik olarak önemli olan vertikal yolla bulaşma potansiyelinin azaltılması bulunmaktadır (Bodelón ve ark 2002).

Damızlıkların aşılması viral artritisin ve diğer patojen reovirusların kontrolünde etkili bir metoddur. Ancak garantili korumanın sadece homolog serotiplerce gerçekleştiği kabul edilmektedir (Drastini ve ark 1992, Kouwenhoven ve ark 1978). Saha suşu, ticari olarak elde olan aşılardan tamamen farklı olduğunda, bazı araştırmacılar muhtemelen bir otojen aşının daha etkili olacağını öne sürmüşlerdir (Drastini ve ark 1992, Kouwenhoven ve ark 1978).

Reovirus spesifik antikorlarının in vitro olarak ölçümü ile maternal antikor taşıyan hayvanların homolog veya heterolog virüslere karşı korunması ile her zaman orantılı olmayabilmektedir. Doğal infeksiyonu takiben bağışık hale gelen hayvanlara nazaran inaktif reovirus aşısı ile aşılanmış hayvanlardaki nötralizan antikorların tip spesifikliği daha azdır (Guo ve ark 2004).

Yaşamlarının ilk gününde meydana gelen infeksiyona karşı oluşan in vivo immunité ile in vitro yapılan nötralizasyon reaksiyonu arasında bir korelasyon bulunmaktadır. Sonuç olarak; ARV infeksiyonunun dünya çapında yaygın olması ve virüsün konakçı dışında relatif dayanıklı olması ve vertikal olarak yavruya geçebilmesi, ticari broiler işletmelerini ARV infeksiyonlarından arı hale getirilmesini engellemektedir (Jones 2000). ARV infeksiyonlarına karşı civcivlerin duyarlılığının çok yüksek olması dolayısıyla infeksiyondan korumak amaçlı hayatlarının ilk gününden itibaren aşılama programları düzenlenmiştir (Montgomery ve ark 1986).

Kullanılan aşılar genellikle artrit/sinovitisli hayvanlardan izole edilen ARV suşları UConn S1133 (Van der Heide ve ark, 1976), 2408, 1733 veya CO8'dan hazırlanmıştır (Hieronymus ve ark 1983, Rosenberger ve ark 1989). Çoğunlukla şimdiye kadar kullanılan S1133 inaktif veya canlı aşıları broiler damızlıklarda civcivlerin maternal antikorlarla korunması amacı ile kullanıldı. Bu tür aşılama bütün ARV izolatlarına karşı yeterli, derecede immun koruma sağlayamamaktadır (Van der Heide 2000). Aşının etkisizliğinde önemli bir nokta, genomlarının segmentli yapısı dolayısıyla reassortment ihtimalinin yüksek olmasıdır. Farklı reoviruslarla miks infeksiyonlarda değişmiş antijenik özellikleri veya patojenitesi olan yeni izolatlar ortaya çıkabilir (Heffels-Redmann ve ark 1992; Benavente ve Martinez-Costas 2007).

Avian reovirusun sigma C proteinini kodlayan S1 geninin amplifiye edilerek bir bitkiye –güçlü bir ekspresyon promoteri olan bir ekspresyon faktörüne -PE1857- klonlanarak yapılan bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada bitkiden elde edilen rekombinant sigmaC proteini ile tavuklarda değişik antikor yanıtları oluşturulmuştur. Rekombinant proetin subkutan veya oral yolla verilen tavuklarda çalenc sonucunda önemli oran da korunma sağlanmıştır (Wu ve ark 2009). Rekombinant reovirus aşıları ile değişik çalışmalar bulunmaktadır (Huang ve ark 2006).

Bir başka çalışmada *Salmonella typhimurium* kullanılarak elde edilen rekombinant Avian reovirus DNA aşısının antikor üretimini sağlayıp sağlamayacağı amaçlanmıştır. 6 günlük SPF civcivler oral yolla SL7207 (pVAX-σC) ile iki hafta ara ile iki kez aşılanmışlardır. İmunizasyondan 2 hafta sonra antikor üretimi saptanmış ve kontrol gruplarından ciddi oranda yüksek olarak bulunmuştur. Çalışmanın sonucunda belirtilen aşının, daha sonraki çalencda hayvanların % 66.7'sini koruduğu saptanmıştır. Bu sonuçlar bu yeni geliştirilen aşının antikor üretimini indüklediği ve hem de ARV enfeksiyonuna karşı koruyucu etkili olduğunu göstermektedir (Wan ve ark 2011).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Kan örnekleri

Bu araştırmada, Bolu ilinin Abant ilçesi ve Balıkesir ilinin Bandırma ilçesi çevresindeki çeşitli şletmelerden tesadüfi örnekleme yoluyla broiler ve broiler damızlık tavuktan kan örnekleri toplandı. Örnekleme 2011 Eylül- 2012 Mayıs ayları arasında gerçekleştirilmiştir. Kan örnekleri iller bazında, avian reoviruslara karşı aşılanmış ve aşılanmamış damızlık ve bu damızlık kaynaklardan elde edilmiş broiler tavuklar (aşılı ve aşısız damızlıkların yavruları) olarak gruplandırıldı.

İllere ve gruplara göre örnek sayıları tablo 2.1’de verilmiştir. Toplam 920 adet kanatlıdan kan örnekleri toplandı. Balıkesir ilinden, 138 aşısız, 200 aşılı broiler ve 100 adet aşılı broiler damızlık olmak üzere toplam 438 tavuk örneklendi. Bolu ilinden ise, 178 örnek aşısız broiler şletmelerinden, 204 örnek aşısız ve 100 adet aşılı broiler damızlıklardan olmak üzere toplam 482 örnek alındı.

Tablo 2.1: Balıkesir ve Bolu illerindeki aşılı ve aşısız broiler damızlık ve aşılı ve aşısız damızlık kaynaklarından alınan broiler tavuk örnek sayıları

Şehir	Broiler		Broiler Damızlık		Toplam
	Aşısız	Aşılı	Aşısız	Aşılı	
Balıkesir	138	200	0	100	438
Bolu	178	0	204	100	482
Toplam	316	200	204	200	920

Örnekleme, Balıkesir ve Bolu illerindeki broiler ve broiler damızlık yetiştiren toplam 17 şletmeye ait 34 farklı kümeden yapıldı. Kan örneklerinin alındığı şletmeler ve küme sayıları tablo 2.2’de verilmiştir.

Tablo 2.2: Kan örneklerinin alındığı işletme ve kümes sayıları

	Aşılı broiler		Aşısız broiler		Aşılı broiler damızlık		Aşısız broiler damızlık	
	İşletme sayısı	Kümes Sayısı	İşletme sayısı	Kümes Sayısı	İşletme sayısı	Kümes Sayısı	İşletme sayısı	Kümes Sayısı
Bolu	0	0	7	10	2	4	3	7
Balıkesir	3	9	1	2	1	2	-	-
TOPLAM	3	9	8	12	3	6	3	7

Kan alma esnasında örneklenen broiler damızlıklarının yaşları 13 ile 66 haftalık arasında, broiler tavukların yaşları ise 40 ile 44 günlük arasında değişmekteydi.

Kan örnekleri, broilerden kesimhanede kesim esnasında 5'er ml, damızlık tavuklardan ise kümeste çiftlik yetkilileri tarafından 2'şer ml olacak şekilde kaolinli tüplere alındı. Kan örnekleri 1700 g'de 30 dk. santrifüj edildikten sonra, serumları ayrılarak ve testler yapılana kadar -20 °C'de saklandı.

2.1.2. Aşılar ve aşılama programı

Aşılama işlemleri işletme yetkilileri tarafından broiler damızlıklara yapılmıştır. Çalışmada örneklenen broilerlerde ARV enfeksiyonuna karşı maternal koruma sağlamak için saha şartlarında aşı uygulanmıştır. Bolu ilindeki broiler damızlıklara modifiye canlı aşı (REOGUARD®L, Merial, Merial Select, Inc., Gainesville, ABD) ile 6. günde ve rapelin 6. haftada uygulandığı bildirilmiştir. Balıkesir ilindeki damızlıklara ise 1-3. haftada ve 10-12. haftalarda olmak üzere 2 defa canlı aşı (Nobilis®REO 1133, Intervet, Milton Keynes, UK) ve 18-19. haftalarda ise inaktif aşı (Nobilis®REO Inac. Intervet, Milton Keynes, UK) uygulanmıştır.

2.2.Yöntem

2.2.1. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Elde edilen serum örneklerinde, ARV virusuna karşı spesifik antikor varlığı ve antikor titreleri ticari Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) (Avian Reovirus Antibody test Kit[®], BioChek, Gouda, Hollanda) ile test edildi. Test üretici firmanın öngördüğü yönteme göre uygulandı.

Testin prensibi şöyledir: Pleyt kuyucuklarına eklenen serum içerisinde ARV'a karşı antikor var olması durumunda, pleyt kuyucuklarında var olan inaktif ARV antijeni ile antikor-antijen kompleksi meydana gelmektedir. Spesifik olmayan tavuk antikorları yıkama ile uzaklaştırılır. Alkalın fosfataz enzimi ile işaretli anti-tavuk antikorları anti-ARV antikorlarına bağlanır. Enzim ve pNPP kromojen olan substrat ile meydana gelen renk değişiminin optik yoğunluğu ELISA okuyucusunda okutulur. Renk yoğunluğu direk olarak serum içerisindeki antikor titresi ile orantılıdır.

2.2.1.1. Kit içeriği ve kullanılan malzemeler

1. Reovirus kaplanmış pleytler (inaktive edilmiş viral antijenle kaplı mikrotitre kuyucukları),
2. Konjugat solüsyonu (Koyun anti-tavuk: Tris tamponu içinde protein stabilizör ile alkalın fosfataz, inert kırmızı boya, koruyucu olarak sodyum tasit (% 0.1 w/v),
3. Substrat tabletleri: substrat tamponu ile çözmek üzere p-Nitrophenyl Phosphat (pNPP) tabletleri,
4. Substrat tampon solüsyonu: enzim ko-faktörleri ile dietanolamin tamponu,
5. Stop solüsyonu: dietanolamin tamponu içinde sodyum hidroksit,
6. Serum örneklerinin sulandırıcısı: protein stabilizörlü ve koruyucu sodyum asitli fosfat tamponu,
7. Yıkama solüsyonu: Tweenli toz halinde fosfat tampon solüsyonu,
8. Negatif kontrol: Protein stabilizörlü ve sodyum asit koruyuculu fosfat tamponunda spesifik patojenlerden arı serum,
9. Pozitif kontrol: Protein stabilizörlü ve sodyum asit koruyuculu fosfat tamponunda spesifik ARV antikorları

Ayrıca hassas pipet ve pipet uçları, 8-12 kanallı pipetler, plastik numune sulandırma tüpleri ve deiyonize su kullanılmıştır.

2.2.1.2. Testin uygulanışı

Teste başlamadan önce tavuk serum örnekleri 1:500 oranında sulandırıldı. Negatif kontrol, pozitif kontrol ve sulandırılmış serum örnekleri, inaktive edilmiş ARV antijeni ile kaplanmış mikropleyt kuyucuklarına ayrı ayrı usulüne uygun olarak eklendi; Pleytlerin A1 ve B1 çukurlarına negatif kontrol serumu, C1 ve D1 çukurlarına pozitif kontrol serumu ve diğer kuyucuklara ise sulandırılmış serum örnekleri 100'er µl konuldu. Pleyt oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Böylece, serum örnekleri ARV antikoru içermesi durumunda pleyt kuyucuklarındaki ARV antijenlerine bağlanarak antijen-antikor kompleksleri oluşturuldu.

Kuyucukların içerikleri boşaltılarak 4 kez yıkama solüsyonu (her bir çukur için 350 µl) ile yıkandı. Pleytler kurutma kâğıtlarına ters çevrilerek yıkama solüsyonu tamamen boşaltıldı. Pleytin yıkanması sonucunda nonspesifik antikorlar ve diğer serum proteinleri ortamdaki uzaklaştırıldı. Daha sonra pleytlerin her bir kuyucuğuna 100'er µl konjugat eklenerek oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Bu işlemle enzimle işaretli konjugatın orijinal tavuk ARV antikorlarına bağlanması sağlandı.

Tekrar her bir çukur 4 kez yıkandı. Bu yıkama işlemi ile ARV antikorlarına bağlanmayan konjugat ortamdaki uzaklaştırıldı. Yıkama işlemi takiben her çukura 100 µl substrat eklenerek, 15 dakika oda ısısında bekletildi. Reaksiyonu durdurmak için her kuyucuğa 100 µl olacak şekilde stop solüsyonu eklendi. Oluşan sarı renk, serum örneklerindeki antikor miktarına bağlı olarak yoğunluk göstermekteydi.

2.2.1.3. Sonuçların değerlendirilmesi

Testi değerlendirmek ve antikor titrelerini hesaplamak için oluşan rengin optik yoğunluğu ELISA okuyucusunda (Biotek Absorbance Microplate Reader, ELx808) okundu.

Aşılı ve aşısız damızlıklar ve bunların yumurtalarından elde edilmiş olan broiler serumlarına ait ELISA testi sonuçları ve antikor titreleri ELISA kitini üreten Biochek'e ait yazılım programı ile hesaplandı.

Üretici firmanın öngördüğü üzere, testin geçerli olması için ortalama negatif kontrol absorbanı 0,30'un altında ve ortalama negatif kontrol ile ortalama pozitif kontrol farkı 0,15'ten büyük olması gerekmektedir.

Serum numunelerindeki antikorların rölatif miktarları, pozitif kontrol referans alınarak, örneğin optik değerinin pozitif kontrolün optik değerine oranı (S/P oranı) şeklinde hesaplandı.

S/P oranının hesaplanması:

S: (Örneklerin optik yoğunluk ortalaması-Negatif kontrolün optik yoğunluk ortalaması)

P: (Pozitif kontrolün optik yoğunluk ortalaması-Negatif kontrolün optik yoğunluk ortalaması)

Test prosedürüne göre, S/P oranı 0.200 veya daha büyük olan numunelerin anti-Reo antikorları içerdiği ve pozitif olduğu kabul edildi.

Antikor titresinin hesaplanması:

Aşağıdaki formül 1:500 dilüsyondaki bir örneğin S/P değerinin en yüksek titreye oranı ile ilişkisini göstermektedir.

$$\text{Log}_{10} \text{Titre} = 1,1 * (\text{Log}_{10} \text{S/P}) + 3,9$$

$$\text{Antilog} = \text{Titre değeri (1:500 sulandırmasındaki bir örneğin)}$$

S/P oranı	Titre	Antikor durumu
0,199 veya daha düşük	1351 veya daha düşük	Negatif
0,200 veya daha büyük	1352 veya daha yüksek	Pozitif

Tüm S/P, titre ve genel sürü profili değerleri üretici firmanın özel bilgisayar programı (BioChek Software programme, Gouda, Hollanda) kullanılarak hesaplandı. Üretici firmanın bildirdiğine göre aşısız hayvanlarda antikor titre değerinin broilerlerde

4000'den broiler damızlıklarda ise 6000'den yüksek olması infeksiyonun yüksek virulan bir suştan kaynaklandığı kabul edilmelidir.

2.2.2. İstatistiksel değerlendirme

Balıkesir ve Bolu illerindeki aşılı ve aşısız broiler ve damızlıklarda seropozitiflik oranlarının istatistiksel karşılaştırılmaları için χ^2 testi ile (Steel ve Torrie 1980), antikor titrelerinin istatistiksel karşılaştırılmaları için ise bağımsız örnek T testi ile (Independent Sample T Test) kullanıldı (Evrin ve Güneş 1994). İstatistiksel analizler SPSS programı kullanılarak yapıldı (Özdamar 2004, SPSS 1999).

3. BULGULAR

3.1. Balıkesir ve Bolu illerindeki tüm kümeslerde ARV antikor pozitiflik oranları

Çalışmada, Balıkesir ve Bolu illerinden toplanan aşılı ve aşısız bütün kümeslerde ARV antikorları bulundu (%100). Bütün broiler ve broiler damızlık kümeslerinden toplanan 920 örneğin 778'i (%84,56) seropozitif olarak saptandı (Tablo 3.1).

Tablo 3.1: Balıkesir ve Bolu illerinden toplanan aşılı ve aşısız bütün tavuklarda ARV antikor pozitiflik oranları

	Toplam Broiler				Toplam Broiler Damızlık				Toplam			
	n	Poz.	Neg.	%	n	Poz.	Neg.	%	n	Poz.	Neg.	%
Balıkesir	338	283	55	83,73	100	80	20	80	438	363	75	82,87
Bolu	178	139	39	78,10	304	276	28	90,79	482	415	67	86,10
Toplam	516	422	94	81,78	404	356	48	88,11	920	778	142	84,56

Bütün aşılı ve aşısız broiler kümeslerinden sağlanan 516 örneğin 422'si (%81,78) ve broiler damızlık kümeslerinden sağlanan 404 örneğin 356'sı (%88,11) seropozitif olarak saptandı.

3.2. Aşısız hayvanlarda ARV enfeksiyonunun yaygınlığı

Balıkesir ve Bolu illerindeki aşısız broiler ve broiler damızlıklarda ARV seropozitiflik oranları Tablo 3.2'de verilmiştir.

Tablo 3.2: Balıkesir ve Bolu illerindeki aşısız broiler ve broiler damızlıklarda seropozitiflik oranları

	Aşısız Broiler				Aşısız Broiler Damızlık				Toplam			
	n	Poz.	Neg.	%	n	Poz.	Neg.	%	n	Poz.	Neg.	%
Balıkesir	138	127	11	92,03	-	-	-	-	138	127	11	92,03
Bolu	178	139	39	78,10	204	183	21	89,70	382	322	60	84,29
Toplam	316	266	50	84,18	204	183	21	89,70	520	449	71	86,35

Balıkesir ve Bolu illerinde örneklenen daha önce hiç aşılanmamış broiler ve damızlık kümeslerinin tümünde ARV'a karşı antikor varlığı saptandı. Her iki ildeki aşısız broiler ve broiler damızlık kümeslerinden alınan toplam 520 adet örnekten 449'u (%86,35) antikor pozitif olarak kaydedildi. Daha önce hiç aşılanmamış broiler kümeslerinden alınan 316 tavuktan 266'sı (%84,18) ARV yönünden antikor pozitif bulundu.

Balıkesir ilindeki aşılanmamış 138 broilerden 127'sinin (%92,03), Bolu ilindeki 178 broilerden ise 139'unun (%78,10) antikor pozitif olduğu saptandı. Her iki ilin broiler kümeslerinde seroprevalansları istatistiksel yöntemle karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık bulundu ($P<0,001$). Bolu ilindeki aşısız broiler damızlıklardan toplanan 204 örnekten 183 adedi (%89,70) ARV yönünden seropozitif olarak kaydedildi. Bolu ilindeki aşısız broiler ve broiler damızlık çiftliklerinde infeksiyon seroprevalansları karşılaştırılmış olup, istatistiksel farklılık anlamlı bulundu ($P<0,05$).

Kümeslerdeki antikor durumu yönünden aşılanmamış broiler kümeslerinde varyasyon katsayıları % 46 ile %91 arasında değiştiği görüldü. Aşısız broiler damızlıkların bulunduğu bir kümeşte varyasyon katsayısı %29 olarak saptanmış olup, diğer damızlık kümeslerinde ise %58 ile %64 arasında olduğu belirlendi.

3.3. Aşılanmış hayvanlarda antikor pozitiflik durumu

Balıkesir ve Bolu illerindeki aşılanmış broiler ve broiler damızlıklarda antikor pozitiflik durumu tablo 3.3'de verilmiştir.

Tablo 3.3: Bolu ve Balıkesir illerinde aşılı broiler ve broiler damızlıklarda antikor pozitiflik oranları

	Aşılı Broiler				Aşılı Broiler Damızlık				Toplam			
	n	Poz.	Neg.	%	n	Poz.	Neg.	%	n	Poz.	Neg.	%
Balıkesir	200	156	44	78	100	80	20	80	300	236	64	78,67
Bolu	-	-	-	-	100	93	7	93	100	93	7	93
Toplam	200	156	44	78	200	173	27	86,5	400	329	71	82,25

Her iki ilde bulunan aşılı broiler ve broiler damızlık kümeslerinden alınan 400 adet örnekten 329'unun (%82,25) antikor pozitif olduğu saptandı. Aşılı broilerlerde antikor

pozitiflik oranı %78 (156/200), aşıllı broiler damızlıklarda ise %86,5 (173/200) olarak hesaplandı. Bütün aşıllı broiler ve broiler damızlık kümeslerindeki seropozitiflik oranları arasındaki farklılık anlamlı bulundu ($P<0,05$).

Balıkesir ilindeki anneleri aşılanmış 200 adet broiler serum örneğinden 156'sı (%78) ARV yönünden antikor pozitif bulundu. Balıkesir ilinde bulunan 100 adet aşıllı broiler damızlıktan 80'i (%80), Bolu ilindeki 100 adet aşıllı broiler damızlıktan ise 93'ü (%93) antikor pozitif olarak tespit edildi. Aşıllı broiler damızlıkların seropozitiflik oranlarının iller arasındaki farklılıkları istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($P<0,001$).

Bütün aşıllı broiler ve broiler damızlık kümeslerindeki toplam seropozitiflik oranlarının iller arasındaki istatistiksel farklılığı anlamsız olarak tespit edildi.

Balıkesir ilindeki aşılanmış broiler ve broiler damızlık tavuklardaki seropozitiflik oranları arasında istatistiksel düzeyde önemli bir farklılık belirlenmedi.

Kümeslerdeki ARV antikor titresi dağılımı bakımından varyasyon katsayılarının aşılanmış broiler kümeslerinde %60 ile %67 arasında değiştiği gözlemlendi. Aşıllı broiler damızlıkların bulunduğu bir kümede varyasyon katsayısının %29, diğer damızlık kümeslerinde ise %45 ile %67 arasında olduğu görüldü.

3.4. Aşılanmış ve aşılanmamış tavukların antikor pozitiflik durumlarının karşılaştırılması

Aşıllı ve aşısız broiler ve broiler damızlık tavuklardaki antikor pozitiflik oranlarının karşılaştırmaları sırasıyla tablo 3.4 ve tablo 3.5'de gösterilmiştir.

Bolu ilindeki anneleri aşılanmış broilerler ile aşılanmamış broilerlerin seropozitiflik oranları arasında istatistiksel bir anlamlılık gözlenmedi. Her iki ilde örneklenen tüm aşıllı ve aşısız broilerlerde toplam seropozitiflik oranları karşılaştırıldığında da istatistiksel bir farklılık saptanmadı.

Tablo 3.4: Aşılı ve Aşısız broilerlerde antikor pozitiflik oranları

	Aşılı Broiler				Aşısız Broiler				Toplam			
	n	Poz.	Neg.	%	n	Poz.	Neg.	%	n	Poz.	Neg.	%
Balıkesir	200	156	44	78	138	127	11	92,03	338	283	55	83,73
Bolu	-	-	-	-	178	139	39	78,10	178	139	39	78,10
Toplam	200	156	44	78	316	266	50	84,18	516	422	94	81,78

Tablo 3.5: Aşılı ve aşısız broiler damızlıklarda antikor pozitiflik oranları

	Aşılı Broiler Damızlık				Aşısız Broiler Damızlık				Toplam			
	n	Poz.	Neg.	%	n	Poz.	Neg.	%	n	Poz.	Neg.	%
Balıkesir	100	80	20	80	-	-	-	-	100	80	20	80
Bolu	100	93	7	93	204	183	21	89,70	304	276	28	90,79
Toplam	200	173	27	86,5	204	183	21	89,70	404	356	48	88,11

Aşılı ve aşısız broilerlerin ortalama antikor titreleri tablo 3.6 ve 3.7’de verilmiştir. Aşılı broilerlerde ortalama antikor titresi 3369,3, aşısızlarda ise 3866,3 idi. Aşılı Broiler damızlıklarda ortalama antikor titresi 4601,2, aşısızlarda ise 5110,6 olarak hesaplandı. İstatistiksel olarak aşılı - aşısız broiler ve aşılı - aşısız broiler damızlık gruplarının antikor titrelerinin karşılaştırılmaları sonucunda herhangi bir istatistiksel farklılık saptanmadı.

Tablo 3.6: Bolu ve Balıkesir illerinde aşılı ve aşısız broiler tavuklarda ortalama antikor titreleri

	Broiler			
	Aşılı		Aşısız	
	n	Ort. Ak. Titresi	n	Ort. Ak. Titresi
Balıkesir	200	3369,3 ± 156,36	138	4613,4 ± 830,51
Bolu	-	-	178	3287,0 ± 180,47
Tüm grup Ort. Ak Titreeri	200	3369,3 ± 156,36	316	3866,3 ± 377,74

Tablo 3.7: Bolu ve Balıkesir illerinde aşılı ve aşısız broiler damızlıklarda ortalama antikor titreleri

	Broiler damızlık			
	Aşılı		Aşısız	
	n	Ort. Ak. Titre	n	Ort. Ak. Titre
Balıkesir	100	3895,2 ± 255,29	-	-
Bolu	100	5307,1 ± 370,61	204	5110,6 ± 218,30
Tüm grup Ort. Ak Titreleri	200	4601,2 ± 229,95	204	5110,6 ± 218,30

4. TARTIŞMA

Avian Reoviruslar (ARV), ticari kanatlılarda viral artrit/tenosinovitis, solunum hastalığı, enterik hastalık ve gelişme geriliği/malabsorbsiyon sendromu gibi bir dizi hastalıkla ilişkilendirilmektedir (Dutta ve Pomeroy 1967, Fahey ve Crawley 1954, Jones 2003, Rosenberger 2003).

Avian reoviruslar bütün dünyada yaygındır ve kanatlı sektöründe ciddi ekonomik kayıplara neden olabilen etkenlerdir. Owoade ve ark. (2006) Nijerya'da 9 damızlık, 14 broiler, 28 yarka, 11 yumurtacı ve 3 adet de horoz kümesinde ELISA ile avian Reovirus seroprevalansını % 41 olarak saptamışlardır. Çin'de yumurtacı tavuklar arasında yapılan bir seroprevalans çalışmasında ülkede aşılama olmamasından dolayı ELISA yöntemi ile bulunan antikor titrelerinin, ARV infeksiyonunun varlığını gösterdiği kabul edilmiş olup, farklı tavuk çiftliklerindeki hayvanların % 92'sinden fazlasında pozitif olarak tespit edilmiştir (Juan ve ark 2008). İran'da yapılan bir başka seroprevalans çalışmasında ise reovirusların İran'ın belli bir bölgesinde varlığının araştırılması amaçlanmış ve bir yıl boyunca toplanan numunelerde ELISA yöntemi kullanılmıştır. Toplam 572 adet serumda %98,3 oranında pozitiflik bulunmuştur (Bokaie ve ark 2008). Biswas ve ark. (2009) ise Bangladeş'deki kümes bazında %56 (55/99) tavukların da %47 (138/295) ARV'ye karşı seropozitiflik bulmuşlardır.

Türkiye'nin çeşitli bölge ve yörelerinde ARV infeksiyonunun varlığı ve serolojik yaygınlığı konusunda daha önceleri yapılmış araştırmalar çok sınırlı olup, güncel ve yeterli bilimsel veriye ulaşılamamıştır. Ayrıca bu infeksiyonun kanatlı yetiştiriciliğine, dolayısıyla ekonomiye verdiği zararlar konusunda yeterli derecede bilgi bulunmamaktadır. Ancak, Türkiye'nin çeşitli yörelerindeki kanatlı işletmelerinde yalnız veya miks infeksiyon şeklinde seyreden çeşitli hastalık olgularında virusun varlığı saptanmıştır (Çöven ve Çarlı 1997, Öztürk ve Çöven 1997).

Çöven ve Çarlı (1997), Manisa, İzmir, Bursa, İstanbul, Ankara ve Konya yörelerindeki klinik olarak Gumboro hastalığından şüpheli sürülerde infeksiyöz bursal hastalığı virusunun (IBDV) yanısıra olaya karışmış olduğu düşünülen ARV, adenovirus (AV) ve Newcastle hastalığı virusunu (NDV) izole etmişlerdir. IBDV izolasyonu için 174 işletmeden alınan bursa Fabricius örneklerinin SPF embriyolu tavuk yumurtası (ETY) ve

civciv embriyo fibroblast hücre kültüründe pasajları yapılmış olup, bu örneklerden 105'inden (%60,3) ARV izole edilmiştir. ARV pozitif işletmelerden 50 'sinde (% 28,7) incelenen 4 viral etkenin birlikte bulunduğu belirlenirken, geri kalan işletmelerde ise ARV enfeksiyonunun diğer viruslardan herhangi biri, 2'si veya 3'ü ile birlikte miks enfeksiyon şeklinde bulunduğu saptanmıştır. Bu işletmelerden 28 (% 16)'inde IBDV+AV+ARV, 6 (%3,4)'unda IBDV+ARV+NDV, 12 (%6,8)'sinde IBDV+ARV, 9 (%5,1)'unda ARV+AV+NDV, 2 (%1,1)'sinde ARV+NDV ve 1(%0,5)'inde ise AV+ARV birlikte izole edilmiştir.

Öztürk ve Çöven (1997), bir çalışmalarında, IBDV'den şüpheli 4 ticari broiler işletmesinden alınan 30-36 günlük 81 adet tavuk materyal olarak kullanılmıştır. İşletmelerin üçüne ait civcivlerin bursa Fabricius (BF)'unda IBDV ve Reovirus varlığı saptamışlardır.

Çarlı ve ark. (1992) Bursa yöresindeki damızlık broilerlerde %1,74 oranında presipite edici antikor saptamışlardır. Akalın ve Ergün (1995) Agar Gel Presipitasyon Testi ile yaptıkları bir çalışmada İzmir Bölgesinde klinik olarak malabsorbsiyon sendrom görülen 9 broiler kümesinden 280 adet kan serumu, yine hastalığı geçiren 2 broiler kümeden kesim esnasında alınan 320 adet kan serumu Agar gel Presipitasyon testinde adeno ve reovirus yönünden incelemişlerdir. Serumların tamamını her iki enfeksiyon yönünden negatif bulmuşlardır. Ayrıca bir broiler damızlık kümesinden alınan 100 adet kan serumundan 11 adedinin reovirus yönünden pozitif (%11) olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırmacılar antikor oranının düşük olmasını antikorlarının saptanmasında AGP testinde sadece reovirus S1133 serotipinden hazırlanmış antijen kullanmış olmalarına bağlamışlar ve seroloji veya izolasyon çalışmalarında diğer serotiplerin de kullanılmasını önermişlerdir.

Erol ve Şengül (2012), İzmir, Aydın ve Manisa illerindeki damızlık ve broiler yetiştiren tavukçuluk işletmelerinde yaptıkları bir çalışmada, ARV enfeksiyonuna karşı aşılammış broiler ve broiler damızlık kümesindeki tavuklardan alınan toplam 631 serum örneğinden 546'sını (%86,53) seropozitif olarak tespit etmişlerdir. Araştırmada, bütün kümeslerde ARV antikorları saptamışlardır. Damızlık broiler kümeslerinden toplanan 336 örneğin 322'si (%95,83) ve broiler kümeslerinden toplanan 295 örneğin 224'ü (%75,93) seropozitif olarak tespit etmişlerdir. Araştırmacılar, Ege Bölgesi'ndeki özellikle broiler yetiştiricilerine kaynak teşkil eden damızlık sürülerde yüksek oranda yaygınlık gösterdiğini vurgulamışlardır.

Bu çalışmada, ARV infeksiyonlarının ülkemizin tavuk yetiştiriciliği yönünden en önemli merkezlerinden olan Balıkesir ve Bolu yörelerindeki broiler ve broiler damızlık işletmelerinde serolojik olarak varlığının ve yaygınlık oranının saptanması amaçlanmıştır. Ayrıca, bölgedeki çiftliklerde uygulanan aşılama konusunda bilgi edinilmeye çalışılmıştır. Örneklenen aşı ve aşısız hayvanlardaki antikor oranları ve düzeyleri karşılaştırılarak, saha şartlarında yapılan aşı uygulamalarının düzenli yapılıp yapılmadığı, yeterli immun yanıt elde edilip edilmediği araştırılmıştır.

Çalışmada, Balıkesir ve Bolu illerinden toplanan aşı ve aşısız bütün kümeslerde ARV'a karşı antikor varlığı saptanmış olup (%100), Bütün broiler ve broiler damızlık kümeslerindeki seropozitiflik oranı %84,56 olarak tespit edilmiştir.

Doğal ARV infeksiyonunun seroprevalansının hesaplanması için aşısız hayvanlar göz önüne alınmıştır. Aşısız broiler ve broiler damızlık tavuklar temel alınarak, genel seroprevalans %86,35 (449/520) olarak hesaplanmıştır. Bu çalışmada saptanan Balıkesir ve Bolu illerini kapsayan seropozitiflik oranı, Erol ve Şengül (2012) tarafından Ege bölgesindeki tavuklarda rapor edilen doğal ARV infeksiyonunun seroprevalansı ile aynı düzeyde, ancak daha önceki yıllarda yapılan araştırmaların sonuçlarına nazaran daha yüksek bulunmuştur (Çarlı ve ark 1992, Akalın ve Ergün 1995). Araştırmada örneklenen kümeslerin ve hayvanların sağlık durumu klinik ve verim düzeyleri konusunda araştırma yapılamamıştır. Bu nedenle söz konusu infeksiyonun hayvanların sağlık durumuna ve verim düzeylerine olan etkileri, dolayısıyla ekonomiye verdikleri zararlar konusunda bilgi elde edilememiştir. Fakat geçmiş yıllara ait çalışmaların ve sunulan bu çalışmanın sonuçları doğrultusunda, Türkiye'nin önemli gıda kaynaklarından olan kanatlı endüstrisinde ARV infeksiyonunun ciddi zararlara yol açabileceği sonucuna varılmıştır.

Daha önce hiç aşılama yapılmamış broiler kümeslerinde ARV infeksiyonunun iller bazında yaygınlığı göz önüne alındığında, Balıkesir'de %92,03 (127/138), Bolu ilinde ise %78,10 (139/178) olarak hesaplanmıştır. Broiler kümeslerinde infeksiyonun seroprevalansı iller bazında karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık bulunmuş olup ($P<0,001$), Balıkesir ilindeki broilerlerde infeksiyonun seroprevalansının Bolu iline nazaran daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bu durumun coğrafik veya yönetsel değişikliklerden kaynaklanabileceği kanısına varılmıştır. Bolu ilindeki aşısız broiler damızlıklarda ise seroprevalans %89,70 (183/204) olarak kaydedilmiştir. Balıkesir'den aşısız damızlık örneği elde edilemediği için

sadece Bolu ilindeki aşısız broiler ve damızlık çiftliklerinde infeksiyon seroprevalansı karşılaştırılabilmiş olup, istatistiksel farklılık anlamlı bulunmuştur ($P<0,05$). Bu verilere göre Erol ve Şengül'ün (2012) Ege bölgesinde yaptıkları çalışmada saptamış oldukları gibi damızlıklarda ARV infeksiyonunun broilerlere oranla daha yüksek oranda seyrettiği görülmüştür. Çalışmada aşısız broiler damızlıkların antikor titreleri, broilerlerin antikor titrelerinden daha yüksek bulunmuştur. Broiler damızlıklarda antikor titrelerinin de rakamsal olarak daha yüksek oluşu, daha genç olan broilerlere nazaran, broiler damızlık kümeslerinde subklinik olarak seyreden infeksiyonun devamlı yenilenerek daha uzun süreli antikor induksiyonu sağladığını düşündürmektedir. Erol ve Şengül (2012) özellikle damızlık kümeslerde infeksiyonun çoğu zaman semptom göstermeksizin, gizli bir şekilde seyredebileceğini ifade etmişlerdir. Yine ARV seroprevalansının broiler damızlıklarda yüksek olması nedeniyle virusun damızlıklarda devamlı sirküle olduğu ve ana kaynağın damızlıklar olduğu söylenebilir. Bu nedenle infeksiyona karşı mücadelenin anaç damızlıklarda başlatılması önerilebilir.

Her iki ildeki ARV'a karşı aşılanmış bütün broiler ve broiler damızlık kümeslerindeki tavukların %82,25'inin (329/400) antikor pozitif olduğu tespit edilmiştir. Balıkesir ilindeki anneleri aşılanmış 200 adet broiler serum örneğinden 156'sı (%78) ARV yönünden antikor pozitif bulunmuştur. Balıkesir ilinde bulunan aşılı broiler damızlıkların %80'i (80/100), Bolu ilindeki aşılı broiler damızlıkların ise %93'ü (93/100) antikor pozitif olarak tespit edilmiştir. Bolu ve Balıkesir illerindeki aşılı broiler damızlıkların seropozitiflik oranları karşılaştırıldığında Bolu ilinde istatistiki olarak daha yüksek bir antikor pozitiflik saptanmıştır ($P<0.001$). Bu sonuç Bolu ilinde kullanılan aşılama yönteminin daha iyi sonuç verdiğini düşündürmektedir.

Antikor titreleri için varyasyon katsayılarının aşılanmış ve aşılanmamış olan tüm broiler kümeslerinde %46 ile %91 arasında, tüm broiler damızlık kümeslerinde ise %29 ile %67 arasında değiştiği gözlenmiştir. Bu sonuçlara göre kümeslerdeki hem aşılı hem de aşısız hayvanlarda antikor dağılımlarının çok değişkenlik gösterdiği görülmüştür.

Aşılı broilerlerde ortalama antikor titresi 3369,3, aşısızlarda ise 3866,3 olduğu tespit edilmiştir. Aşılı ve aşısız broiler damızlıklarda ise ortalama antikor titresi sırasıyla 4601,2, ve 5110,6 olarak bulunmuştur. Genel olarak bu çalışmada aşılı ve aşısız broiler ve broiler damızlıkların seropozitiflik oranları ve titreleri arasında karşılaştırmalar yapıldığında

istatistiksel olarak aşılı ve aşısız tavuklar arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Bunun sebebi doğal infeksiyonun bölgede yaygın olması dolayısıyla doğal infeksiyon sonucu meydana gelen antikorların aşı virusunu nötralize etmesi ya da serotip farklılığı olabilir. Ayrıca bu çalışmanın sonuçları, aşılı hayvanlara göre aşısız hayvanlarda antikor düzeyinin rakamsal olarak daha yüksek olabileceğini de göstermektedir. Bunun muhtemel sebebi olarak ta bölgede yaygın olan virusun virulent olması veya sirkülasyonda bulunan ARV infeksiyonunun immunsupresyon oluşturarak aşı virusuna karşı yeterli immun yanıt oluşmaması gösterilebilir. Çalışmada örneklenen işletmelerde aşılı ve aşısız hayvanlarda antikor pozitiflik oranları ve titreleri arasında istatistiksel fark bulunmaması göz önüne alındığında, Türkiye’de aşılama programlarının düzenli ve bilinçli uygulanmadığı kanısına varılmıştır.

Bu çalışmada, aşılı ve aşısız hayvanlardaki antikor titreleri ve pozitiflik oranları arasında istatistiksel bir farklılık saptanmaması nedeniyle aşılı ve aşısız hayvanları ELISA ile ayırmak ve antikorların invitro olarak ölçümü ile koruma durumunu belirleyebilmek mümkün olmamıştır. Bu sonuç, Türkiye’deki sürülerde doğal ARV infeksiyonuna karşı antikor pozitifliğin yüksek olması dolayısıyla sonuçların değerlendirmesini güçleştireceği için, aşılama sonrası antikor titreleri ve seropozitiflik oranlarının saptanması, sürü bazında infeksiyona karşı koruma düzeyinin belirlenmesi açısından, Türkiye şartlarında değerli bir yöntem olmadığını ve değerlendirmelerin güçlüğüyle yapılacağını düşündürmektedir.

Guo ve ark.’nın (2004) bildirdiğine göre, ARV spesifik antikorların invitro olarak ölçümü ile maternal antikor taşıyan hayvanların homolog veya heterolog virüslere karşı korunması her zaman orantılı olmayabilmektedir. Doğal infeksiyonu takiben bağışık hale gelen hayvanlara nazaran inaktif reovirus aşısı ile aşılanmış hayvanlardaki nötralizan antikorların tip spesifikliğı daha azdır (Guo ve ark 2004). Maternal antikorlar tarafından koruyucu etkinin temelini damızlıkların aşılanması oluşturmaktadır (Jones 2000). Avian reovirüslere karşı oluşan maternal antikorlar bir günlük civcivlerin homolog virüsle infeksiyon oluşturulduktan sonra tenosinovitisin mikroskobik lezyonlarından korunmasında etkindir (2ve ark 1987). Damızlıkların aşılanması viral artritisin ve diğer patojen reovirüslerin kontrolünde de etkili bir methodur. Ancak garantili korumanın sadece homolog serotiplerce gerçekleştiğı kabul edilmektedir. Saha suşu, ticari olarak elde olan aşıdakinden tamamen farklı olduğunda, muhtemelen bir otojen aşının daha etkili olacağını öne sürülmektedir (Jones 2000, Vielitz ve ark 1989, Van der Heide 2000, Hein ve ark 2003).

Yapılan çalışmada aşısız hayvanlarda da antikor düzeyi yüksek bulunduğu için aşılama sonrasında koruma düzeyinin belirlenmesi bakımından hümoral yanıt yetersiz kalmıştır. Kibenge ve ark (1987) bir çalışmada ARV enfeksiyonu sonrasında iyileşmeye muhtemelen B- ve T- hücre sistemlerinin katıldığını ve B-hücre sisteminin korumada daha önemli olduğunu rapor etmişlerdir. Aşılı hayvanlarda hücresel immün yanıtın rolü ve etkinliği bilinmemektedir. Çalışmada aşılı ve aşısız hayvanların, sağlık statüleri ve verimlilik parametreleri yönünden karşılaştırılması yapılamamıştır. Aşılamının etkinliğinin araştırılması amacıyla hayvanların sağlık durumlarının ve verimlilik parametrelerinin aşılı ve aşısız hayvanlarda karşılaştırılması, özellikle deneysel çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

Türkiye’de ARV enfeksiyonuna karşı düzenli bir mücadele programının uygulanmadığı görülmektedir. Mutlu ve Yiğit’in (1997) yapmış oldukları bir araştırmada Türkiye’de izole edilen saha izolatlarının birbirlerinden çok geniş antijenik farklılıklarının olduğunu ve aşı suşu olarak sık kullanılan S1133 ile antijenik yakınlığının bulunmadığını saptamışlardır. Reovirusların antijenik farklılık göstermeleri nedeniyle enfeksiyona karşı yapılan aşılamaların da etkinliği yeterince bilinmemektedir.

Bu çalışmanın sonuçları ARV enfeksiyonunun Balıkesir ve Bolu yörelerinde oldukça yaygın olduğunu ve aşılamaların düzensiz yapıldığını ve enfeksiyona karşı uygun mücadele programının bulunmadığını göstermektedir. Bu nedenle ARV enfeksiyonları konusunda ülkede gerekli virolojik ve moleküler epidemiyolojik araştırmaların yapılarak, bölgeye uygun aşıların ve aşılama tekniklerinin geliştirilmesi, mücadele programlarının oluşturulması ve bu programların düzenli olarak uygulanması gerekmektedir.

5. SONUÇ

Bu araştırmada, broiler yetiştiriciliğinde önemli solunum sistemi semptomlarına, topallığa ve verim düşüklüklerine yol açan ARV infeksiyonunun Marmara Bölgesi'nde bulunan, Türkiye'nin önemli kanatlı sektörü merkezlerinden olan Balıkesir ve Bolu illerindeki broiler ve damızlık tavuk kümeslerinde yüksek oranda yaygınlık gösterdiği belirlenmiştir. Özellikle broiler yetiştiricilerine kaynak teşkil eden damızlık sürülerde de yüksek oranda yaygınlık göstermesi sebebiyle virusun broiler damızlık işletmelerinde subklinik infeksiyon şeklinde sirküle olarak broiler yetiştiriciliği için bir infeksiyon kaynağı olabileceği için mücadelenin anaç damızlıklarda daha fazla önem verilmesi gerektiği düşünölmektedir. Araştırmada örneklenen kümeslerin ve hayvanların sağlık durumu klinik ve verim düzeyleri konusunda araştırma yapılamamıştır. Bu nedenle söz konusu infeksiyonun hayvanların sağlık durumuna ve verim düzeylerine olan etkileri, dolayısıyla ekonomiye verdikleri zararlar konusunda bilgi elde edilememiştir. Ancak daha önceki çalışmalar ve bu araştırmada elde edilen yüksek prevalans infeksiyonun önemli derecede maddi kayıplara yol açabileceğine işaret etmektedir.

Aşılı ve aşısız broiler ve broiler damızlık sürülerinin antikor pozitiflik oranları ile titreleri arasında istatistiksel farklılık tespit edilmemiştir. Bu bilgiler doğrultusunda Türkiye'de ARV infeksiyonuna karşı düzenli bir aşılama programının uygulanmadığı görölmektedir. Bu nedenle bölgedeki saha suşlarının biyolojik, serolojik, epidemiyolojik ve moleküler özelliklerinin belirlenmesi ve bölgeye uygun aşı, aşılama programları üzerine ayrıntılı araştırmaların yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır. Söz konusu olan viral infeksiyondan kaynaklanan ekonomik kayıpları en az düzeye indirmek için hazırlanan yeni mücadele ve aşılama programları düzenli ve bilinçli şekilde uygulanmalıdır.

6. ÖZET

Avian reovirusları (ARV) viral artrit sendromunun nedenidir. Ayrıca, ARV tek başına ya da diğer ajanlar ile birlikte, enterik solunum yolu hastalıkları, miyokardit, hepatit ve tavuklarda büyüme geriliği / malabsorpsiyon sendromu gibi klinik tablolara da neden olabilir.

Bu çalışmada, Türkiye'nin önemli kanatlı yetiştiriciliği merkezlerinden olan Balıkesir ve Bandırma illerindeki broiler ve broiler damızlık yetiştiren tavukçuluk işletmelerinde ARV enfeksiyonunun seroepidemiolojik durumu araştırıldı. Bu amaçla, ticari Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) (Avian Reovirus Antibody test Kit[®], BioChek, Gouda, Hollanda) kullanılarak 11 broiler ve 6 broiler damızlık yetiştiriciliği işletmesindeki ARV'una karşı aşı ve aşı olmayan tavuklardan alınan toplam 920 serum örneği ARV antikorları yönünden test edildi.

Test sonucunda bütün kümeslerde ARV antikorları bulundu. Aşılanmamış broiler damızlık kümeslerinden toplanan 204 örneğin 183'ü (%89,70) ve broiler kümeslerinden toplanan 316 örneğin 266'sı (%84,18) seropozitif olarak saptandı. Test edilen 200'er adet ARV'a karşı aşılanmış broiler ve broiler damızlıklarda ise antikor pozitiflik oranları sırasıyla %78 ve %86,5 olarak hesaplandı. Aşılanmamış ve aşı olmayan broiler ve broiler damızlık sürülerinin antikor pozitiflik oranları ile titreleri arasında istatistiksel farklılık tespit edilmedi.

Bu sonuçlar, kanatlılarda önemli ekonomik ve verim kaybına yolaçan ARV enfeksiyonlarının Bolu ve Balıkesir illerinde çok yaygın olduğunu göstermekte olup, enfeksiyonla mücadele yöntemlerinin geliştirilmesi ve düzenli olarak uygulanması gerektiğini vurgulamaktadır. Ayrıca bölgeye uygun ARV'a karşı aşı, aşılanma programları üzerine ayrıntılı araştırmaların yapılması gerektiği kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Avian reovirus, antikor, kanatlı, broiler, seroprevalans, ELISA

7. SUMMARY

Avian Reoviruses (ARV) are the cause of avian viral arthritis syndrome. In addition they, either by themselves or along with other pathogens, may cause clinical symptoms such as enteric-respiratory diseases, myocarditis, hepatitis, and growth retardation / malabsorption syndrome in chickens.

In this study, seroepidemiology of ARV infection in broiler and broiler breeder enterprises in Balıkesir and Bolu provinces, which are important centers of poultry breeding in Turkey, was investigated. A total 920 serum samples collected from 11 broiler and 6 broiler breeder enterprises were tested for ARV antibodies using a commercially available Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) kit (Avian Reovirus Antibody test, BioChek, Gouda, Netherlands).

Antibodies were found in all chicken farms; 266 of the 316 (84.18%) samples collected from non-vaccinated broiler chickens and 183 of the 204 (89.70%) samples collected from non-vaccinated broiler breeder chickens were seropositive. Antibody positivity rates were determined as 78% (156/200) and 86.5% (173/200), respectively for broiler and broiler breeders vaccinated against ARV. The differences between vaccinated and unvaccinated chickens in terms of seropositivity rates and antibody titers were found not statistically significant.

In summary, ARV infections resulting in decreased productivity and important economical losses in the poultry industry are very common in Balıkesir and Bolu provinces of Marmara region. The need for taking protective measures against this infection and determining methods to combat the infection is being emphasized by these results. It is suggested the further researches on vaccine and vaccination programs against ARV infections in this region.

Keywords: Avian reovirus, antibody, chicken, broiler, seroprevalance, ELISA

8. KAYNAKLAR

- Adair BM, Burns K, McKillop ER. Serological studies with reoviruses in chickens, turkeys and ducks. *Journal of Comparative Pathology* 1987; 97: 495-501.
- Akalın N, Ergün A. Gelişmede gerilik gösteren piliç serumlarında Reo ve Adenovirus antikollarının AGP testi ile taranması. *Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Dergisi* 1995; 19(33): 109-116.
- Apple RO, Skeeles JK, Houghten GE, Beasley JN, Kim KS. Investigation of a chronic feed-passage problem on a broiler farm in Northwest Arkansas. *Avian Diseases* 1991; 35: 422-425.
- Benavente J, Martínez-Costas J. Avian reovirus: structure and biology. *Virus Research* 2007; 123: 105-119.
- Biswas BK, Barua A, Uddin GMN, Biswas D, Ahad A, Debnath NC. Serosurvey of five viruses in chickens on smallholdings in Bangladesh. *Preventive Veterinary Medicine* 2009; 88: 67-71.
- Bodelon G, Labrada L, Martínez-Costas J, Benavente J. The avian reovirus genome segment S1 is a functionally tricistronic gene that expresses one structural and two nonstructural proteins in infected cell. *Journal of Virology* 2001; 290: 181-191.
- Bokaie S, Shojadoost B, Pourbakhsh SA, Pourseyyed SM, Sharifi L. Seroprevalence survey on Reovirus infection of broiler chickens in Tehran province. *Iranian Journal of Veterinary Research Shiraz University* 2008; 9(2): 181-183.
- Chandran K, Nibert ML. Animal cell invasion by a large nonenveloped virus: reovirus delivers the goods. *Trends Microbiology* 2003; 11: 374-382.
- Chiu CJ, Lee LH. Cloning and nucleotide sequencing of the S4 genome segment of avian reovirus S1133. *Archives of Virology* 1997; 142: 2515-2520.
- Çarlı KT, Şen A, Ülgen M, Kahraman M. Detection of anti-reovirus precipitating antibodies in serum of broiler breeders in Bursa province. *Uludag Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 1992; 11, 161-164.
- Çöven F, Çarlı KT. Gumboro salgınlarında reovirus, adenovirus ve Newcastle hastalığı virus izolasyonu. *Pendik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi* 1997; 28(2): 153-161.
- Deshmukh DR, Pomeroy BS. Avian reoviruses I. Isolation and serological characterization. *Avian Diseases* 1969; 13: 239-243.
- Drastini Y, Kibenge FSB, McKenna PK, Lopez A. Comparison of eight different procedures for harvesting avian reoviruses grown in Vero cells, *Journal of Virological Methods* 1992; 39: 269-278

- Dutta SK, Pomeroy BS. Isolation and characterization of an enterovirus from baby chicks having an enteric infection I. Isolation and pathogenicity. *Avian Diseases* 1967; 11: 1-8.
- Ellis MN, Eidson CS, Fletcher OJ and Kleven SH. Viral tissue tropisms and interferon production in White Leghorn chickens infected with two reovirus strains. *Avian Diseases* 1983; 27: 644-651.
- Endo-Munoz LB. A Western blot to detect antibody to avian reovirus. *Avian Pathology* 1990; 19(3): 477-87.
- Erol N, Şengül SS. Seroprevalence of Avian Reovirus Infections in Chickens in Western Provinces of Turkey İnfeksiyon. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2012; 18(4): 653-656.
- Evrin M, Güneş H. *Biyometri. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayını*, 1994. No:41.
- Fahey JE, Crawley JF. Studies on chronic respiratory disease of chickens, II. Isolation of a virus. *Canadian Journal of Comparative Medicine and Veterinary Science* 1954; 18: 13-21.
- Forrest JC, Dermody TS Reovirus receptors and pathogenesis. *Journal of Virology* 2003; 77: 9109-9115.
- Frazier JA, Reece RL. Infectious stunting syndrome of chickens in Great Britain: intestinal ultrastructural pathology. *Avian Pathology* 1990; 19, 759-777.
- Giambrone JJ, Dormitorio T, Lockaby SB. Coarse-spray immunization of one-day-old broilers against enteric reovirus infections. *Avian Diseases* 1992; 36: 364-368.
- Giambrone JJ, Hathcock TL. Efficacy of coarse-spray administration of a reovirus vaccine in young chickens. *Avian Diseases* 1991; 35: 204-209.
- Giambrone JJ, Hathcock TL, Lockaby SB. Effect of a live reovirus vaccine on reproduction performance of broiler breeder hens and development of viral tenosynovitis in progeny. *Avian Diseases* 1991a; 35: 380-383.
- Giambrone JJ, Solano W. Serologic comparison of avian reovirus isolates using virus neutralization and an enzyme-linked immunosorbent assay. *Avian Diseases* 1988; 32: 678-680.
- Glass SE, Naqi SA, Hall CF, Kerr KM. Isolation and characterization of a virus associated with arthritis of chickens. *Avian Diseases* 1973; 17: 415-424.
- González-López C, Martínez-Costas J, Esteban M, Benavente J. Evidence that avian reovirus σ -A protein is an inhibitor of the double-stranded RNA-dependent protein kinase. *Journal of General Virology* 2003; 84: 1629–1639.
- Goodwin MA, Davis JF, Player EC. Reovirus-associated enteritis in Georgia broiler chicks. *Avian Diseases* 1993a; 37: 229-233.

- Goodwin MA, Davis JF, McNulty MS, Brown J, Player EC. Enteritis (So-called runting stunting syndrome) in Georgia broiler chicks. *Avian Diseases* 1993b; 37: 451-458.
- Gooß O. Reovirusinfektion bei Broilern: Charakterisierung und in vivo Bestimmung der Pathogenität neuer Isolate aus Masthähnchenbeständen mit Malabsorptions-Syndrom. Inaugural-Dissertation, der Freien Universität Berlin, Journal-Nr: 3240-2008
- Gouvea VS, Schnitzer TJ. Polymorphism of the genomic RNAs among the avian reoviruses. *Journal of General Virology* 1982a; 61: 87-91.
- Gouvea V, Schnitzer T. Pathogenicity of avian reoviruses: examination of six isolates and a vaccine strain. *Infection and Immunology* 1982; 38: 731-738.
- Grande A, Rodriguez E, Costas C, Everitt E, Benavente J. Oligomerization and cell-binding properties of the avian reovirus cell-attachment protein σ C. *Virology* 2000; 274: 367-377.
- Grande A, Benavente J. Optimal conditions for the growth, purification and storage of the avian reovirus S1133. *Journal of Virological Methods* 2000; 85: 43-54.
- Guo ZY, Giambrone JJ, Wu H, Dormitorio T. Safety and efficacy of an experimental reovirus vaccine for in ovo administration. *Avian Disease* 2003; 47: 1423-1428.
- Guo ZY, Giambrone JJ, Liu Z, Dormitorio TV, Wu H. Effect of in ovo administered reovirus vaccines on immune response of specific pathogen-free chickens. *Avian Diseases* 2004; 48(1): 224-8.
- Guy SJ. Virus infections of the gastrointestinal tract of poultry. *Poultry Science* 1998; 77: 1166-1175.
- Heffels-Redmann U, Muller H, Kaleta EF. Structural and biological characteristics of reoviruses isolated from Muscovy ducks (*Cairina moschata*). *Avian Pathology* 1992; 21(3): 481-491.
- Heggen-Peay C L, Cheema MA, Ali RA, Schat KA, Qureshi MA. Interactions of poult enteritis and mortality syndrome-associated reovirus with various cell types in vitro. *Poultry Science* 2002; 81: 1661-1667.
- Hein RG, Jensen K, Roessler DE, Slacum G, Van de Zande. Methods of treating and preventing neurological symptoms caused by avian reovirus and novel associated characteristics (patent documentation) 9 Oct. 2003.
- Hieronimus DRK, Villegas P, Kleven SH. Identification and serological differentiation of several reovirus strains isolated from chickens with suspected malabsorption syndrome. *Avian Diseases* 1983; 27: 246-54.
- Hill JE, Rowland GN, Steffens WL and Ard MB.. Ultrastructure of the gastrocnemius tendon and sheath from broilers infected with reovirus. *Avian Dis.* 1989; 33:79—85.
- Huang DD, Liao SC, Chang CC, Liu HJ. Expression of avian reovirus sigmaC protein in transgenic plants. *Journal of Virological Methods.* 2006; 134: (1-2): 217-22

- Ide PR, Dewitt W (1979) Serological incidence of avian reovirus infection in broiler breeders and progeny in Nova Scotia. *The Canadian Veterinary Journal* 1979; 20: 348-353.
- Johnson DC. Diagnosis, pathology and ethiology of tenosynovitis in broilers and broiler breeders, *Avian Diseases* 1972; 16: 1067-1072.
- Jones RC. Avian reovirus infections *Rev Sci Technics* 2000; 19: 614-625.
- Jones RC. Other reovirus infections. In: *Diseases of poultry*, 11th. Saif YM, Barnes HJ, Glisson JR, Fadly AM, McDougald LR, Swayne DE. Ames, Iowa State Press 2003. p. 293-298.
- Jones RC, El-Taher AMM. Reisolation of avian arthrotropic reovirus R2 from chicks infected as embryos. *Avian Pathology* 1986; 14: 377-382.
- Jones RC, Guneratne JRM. The pathogenicity of some avian reoviruses with particular reference to tenosynovitis. *Avian Pathology* 1984; 13: 173-189.
- Juan Pu, Xingli Liu, Youchun Guo, Yu Cao, Jixun Zhao, Guozhong Zhang A. Seroprevalence of Avian Reovirus in Egg-Laying Chicken Flocks in China. *Avian Diseases* 2008; 52(4): 675-679.
- Kaji T, Nonomura I, Sato S, Kobayashi H, Shoya S. Pathogenicity of avianreovirus and its influence on the infection of *Mycoplasma gallisepticum* in chickens. *National Institute of Animal Health Quarterly* 1970; 10: 49-57.
- Kawamura H, Shimizu F, Maeda M, Tsubahara H. Avian reovirus: its properties and serological classification. *National Institute of Animal Health Quarterly Tokyo* 1965; 5: 115-124.
- Kerr KM, Olson NO. Pathology of chickens experimentally inoculated or contact-infected with an arthritis producing virus, *Avian Diseases* 1969; 13: 729-745.
- Kibenge FSB, Robertson MD, Wilcox GE, Pass DA. Bacterial and viral agents associated with tenosynovitis in broiler breeders in Western Australia. *Avian Pathology* 1982; 11: 351-359.
- Kibenge F.S.B., Jones R.C. & Savage CE. Effects of experimental immunosuppression on reovirus-induced tenosynovitis in light hybrid chickens. *Avian Pathology* 1987; 16: 73-92.
- Kouwenhoven B, Vertommen M, Goren E. Investigations into the role of reovirus in the malabsorption syndrome. *Avian Pathology* 1988; 17: 879-892.
- Kouwenhoven B, Vertommen M, Van Heck JHH. Runting and leg weakness in broilers: involvement of infectious factors. *Veterinary Science Communications* 1978; 2: 253-259.
- Krauss M, Überschär S. Zur Struktur eines neuen Geflügel-Orphan-Virus. *Zentralblatt für Veterinärmedizin Reihe B* 1966; 13: 239-249.

- Lee LH, Shien JH, Shieh HK. Detection of avian reovirus RNA and comparison of a portion of genome segment S3 by polymerase chain reaction and restriction enzyme fragment length polymorphism. *Research in Veterinary Science* 1998; 65: 11-15.
- Lozano LF, Hammami S, Castro AE, Osburn B. Comparison of electron microscopy and polyacrylamide gel electrophoresis in the diagnosis of avian reovirus and rotavirus infections. *Avian Diseases* 1992; 36: 183-188.
- Mallo M, Martínez-Costas J, Benavente J. Avian reovirus S1133 can replicate in mouse L cells: effect of pH and cell attachment status on viral infection. *Virology* 1991; 65: 5499-5505.
- Malkinson M, Perk K, Weisman Y. Reovirus infection of young Muscovy ducks (*Cairina moschata*). *Avian Pathology* 1981; 10: 433-440.
- Martinez-Costas J, Grande A, Varela R, García-Martínez C, Benavente J. Protein architecture of avian reovirus S1133 and identification of the cell attachment protein. *Journal of Virology* 1997; 71: 59-64.
- Martinez-Costas J, Varela R, Benavente J. Endogenous enzymatic activities of the avian reovirus S1133: identification of the viral capping enzyme. *Virology* 1995; 206: 1017-1026.
- Menendez NA, Calnek BW, Cowen BS. Experimental egg-transmission of avian reovirus. *Avian Diseases* 1975a; 19(1): 104-11.
- Menendez NA, Calnek BW, Cowen BS. Localization of avian reovirus (FDO isolant) in tissues of mature chickens. *Avian Diseases* 1975b; 19: 112-117.
- Mertens P. The dsRNA viruses. *Virus Research* 2004; 101: 3-13.
- Montgomery RD, Boyle CR, Maslin WR, Magee DL. Attempts to reproduce a runting/stunting-type syndrome using infectious agents isolated from affected Mississippi broilers. *Avian Diseases* 1997; 41: 80-92.
- Montgomery RD, Maslin WR. Persistence of commercial modified live reovirus vaccines in chick. *Avian Diseases* 1988; 32: 461-468.
- Montgomery RD, Maslin WR. Effect of infectious bursal disease virus vaccines on persistence and pathogenicity of modified live reovirus vaccines in chickens. *Avian Diseases* 1991; 35: 147-157.
- Montgomery RD, Villegas P, Kleven SH. Role of route of exposure, age, sex and type of chicken on the pathogenicity of avian reovirus strain 81-176. *Avian Diseases* 1986; 30: 460-467.
- Mukiibi-Muka G, Jones RC. Local and systemic IgA and IgG responses of chicks to avian reoviruses: effects of age of chick, route of infection and virus strain. *Avian Pathology* 1999; 28: 54-60.

- Munro TF, Wooley RE. Neutralization kinetics study of selected reoviruses. *Infection and Immunology* 1973; 8: 628-630.
- Murphy FA, Gibbs E, Paul J, Horzinek M, Studdert MJ. *Veterinary Virology* 3rd Ed.; 2008; 392- 396.
- Mutlu OF, Yiğit A. Identification and serological comparison of various reovirus strains isolated from chickens suspected of having hunting syndrome in Turkey. *Bornova Veteriner Kontrol Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Dergisi* 1997; 22(36): 85-98.
- Olson NO, Kerr KM. Some characteristics of an avian arthritis viral agent. *Avian Diseases* 1966; 10: 470-476.
- Olson NO, Shelton DC, Munro DA. Infectious synovitis control by medication; effect of strain differences and pleuropneumonia-like organisms. *American Journal of Veterinary Research* 1957; 18: 735-739.
- Olson NO and Solomon DP. A natural outbreak of synovitis caused by the viral arthritis agent. *Avian Dis.* 1968; 12:311-316.
- Olson NO, Weiss R. Similarity between arthritis virus and Fahey-Crawley virus. *Avian Diseases* 1972; 16: 535-540.
- Owoade AA, Ducatez M.F. and Muller CP. Seroprevalence of Avian influenza virus (AIV), Infectious bronchitis virus (IBV), Reovirus, Avian Pneumovirus (AP), Infectious laryngotracheitis (ILT) virus and Avian leucosis Virus in Nigerian Poultry. *Avian Diseases* 2006; 50: 222-227.
- Özdamar K. Paket Programlar ile İstatistiksel Veri Analizi. 5. Baskı. Eskişehir: Kaan Kitabevi 2004.
- Öztürk G, Çöven F. Broilerlerde İnfeksiyöz Bursal hastalığı (IBD), Reovirus Enfeksiyonu ve Bursal Cryptosporidiosis. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi Veteriner* 1997; 11(2): 341-349.
- Pantin-Jackwood MJ, Day JM, Jackwood MW, Spackman E. Enteric viruses detected by molecular methods in commercial chicken and turkey flocks in the United States between 2005-2006. *Avian Diseases* 2008; 52(2): 235-244.
- Page RK, Fletcher OJ and Villegas P. Infectious tenosynovitis in young turkeys. *Avian Dis.* 1982; 26:924-927.
- Petek M., Feiluga B., Borghi G. & Baroni A. The crawley agent: an avian reovirus. *Arch. ges. Virusforsch.*, 1967, 21 , 413-424.
- Reece RL, Frazier JA. Infectious stunting syndrome of chickens in Great Britain: Field and experimental studies, *Avian Pathology* 1990; 19: 723-758.
- Rekik MR, Silim A, Bernier G. Serological and pathogenic characterization of avian reoviruses isolated in Quebec. *Avian Pathology* 1991; 20: 607-610.

- Roessler DE and Rosenberger JK. In vitro and in vivo characterization of avian reoviruses. III. Host factors affecting virulence and persistence. *Avian Dis.* 1989; 33:555-65.
- Rosenberger JK, Jones RC. Reovirus infections, In: *Diseases of poultry*. 11th. Saif, Y. M., Barnes, H. J., Glisson, J. R., Fadly, A. M., McDougald, L. R., Swayne, D. E. Ames, Iowa State Press 2003; 283-298.
- Rosenberger JK, Olson NO. *Diseases of Poultry*. 10th ed. Iowa State University Press, Ames, IA. 1997; p.711-719
- Rosenberger JK, Sterner FJ, Botts S, Lee KP, Margolin A. In vitro and in vivo characterization of avian reoviruses. I. Pathogenicity and antigenic relatedness of several avian reovirus isolates. *Avian Diseases* 1989; 33: 535-544.
- Rudas P, Sályi G, Szabó J. Decreased thyroxine, triiodothyronine, and 5'-deionidation levels in malabsorption syndrome (runting or stunting syndrome) in artificially inoculated broilers. *Avian Diseases* 1986; 30: 293-297.
- Sahu SP, Olson NO. Comparison of the characteristics of avian reoviruses isolated from the digestive and respiratory tract, with viruses isolated from the synoviae. *American Journal of Veterinary Research* 1975; 36: 847-850.
- Shapouri RSM, Kane M, Letarte M, Bergeron J, Arella M, Silim A. Cloning, sequencing and expression of S1 gene of avian reovirus. *Journal of General Virology* 1995; 76:1515-1520.
- Sharma JM, Karaca K, Pertile T. Virus-induced immunosuppression in chickens. *Poult Sci.* 1994 Jul;73(7):1082-6.
- Shirai J, Obata H, Nakamura K, Furuta K, Hihara H, Kawamura H. Experimental infection in specific-pathogen-free chicks with avian reovirus and avian nephritis virus isolated from broiler chicks showing runting syndrome. *Avian Diseases* 1990; 34: 295-303.
- Slaght SS, Yang TJ, Van der Heide L ve Fredrickson T. An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for detecting chicken anti-reovirus antibody at high sensitivity. *Avian Diseases* 1978; 22: 802-805.
- Songserm T, Engel B, van Roozelaar DJ, Kok GL, Pijpers A, Pol JMA, Ter Huurne A. Cellular immune response in the small intestine of two broiler chicken lines orally inoculated with malabsorption syndrome homogenates. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2002; 85: 51-62.
- Songserm T, Pol JMA, van Roozelaar D, Kok GL, Wagenaar F, Ter Huurne A. A comparative study of the pathogenesis of malabsorption syndrome in broilers. *Avian Diseases* 2000; 44: 556-567.
- Spandidos DA, Graham AF. Physical and chemical characterization of an avian reovirus. *Journal of Virology* 1976; 19: 968-976.

- SPSS. Statistical Package for the Social Sciences, Release 10.0. Chicago, IL., USA: SPSS Inc. 1999
- Steel RGD, Torrie JH. Principles and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach, 2nd Ed. New York. 1980.
- Tang KN, Fletcher OJ, Villegas P. Comparative study of the pathogenicity of avian reoviruses, *Avian Diseases* 1987; 31: 577-583.
- Van der Heide L. Viral arthritis/tenosynovitis: A review. *Avian Pathology* 1977; 6: 271-284.
- Van der Heide L. The history of avian reovirus. *Avian Diseases* 2000; 44: 638-641.
- Van der Heide L, Geissler J, Bryant ES. Infectious tenosynovitis: Serologic and histopathologic response after experimental infection with a Connecticut isolate. *Avian Diseases* 1974; 18: 289-296.
- Van der Heide L, Kalbac M, Brustolon M. Development of an attenuated apathogenic reovirus vaccine against viral arthritis/ tenosynovitis. *Avian Diseases* 1983; 27: 698-706.
- Van der Heide L, Kalbac M, Hall WC. Infectious tenosynovitis (viral arthritis): influence of maternal antibodies on the development of tenosynovitis lesions after experimental infection of day-old chickens with tenosynovitis virus. *Avian Diseases* 1976; 20: 641-648
- Van der Heide L, Lutticken D, Horzinek M. Isolation of avian reovirus as a possible etiologic agent of osteoporosis ("brittle bone disease"; "femoral head necrosis") in broiler chickens. *Avian Diseases* 1981; 25: 847-856.
- Van de Zande S, Kuhn EM. Central nervous system signs in chickens caused by a new avian reovirus strain: a pathogenesis study. *Veterinary Microbiology* 2007; 120: 42-49.
- Van Loon AA, Koopman HC, Kosman W, Mumczur J, Szeleszczuk O, Karpinska E, Kosowska G, Lütticken D. Isolation of a new serotype of avian reovirus associated with malabsorption syndrome in chickens. *Veterinary Quarterly* 2001; 23: 129-133.
- Varela, R. & Benavente, J. Protein coding assignment of avian reovirus strain S1133. *Journal of Virology* 1994; 68, 6775-6777.
- Vielitz E., Conrad C, Voss M. Zum Auftreten einer Reovirus-Variante in deutschen Broilerbeständen. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift* 1989; 96: 380-382.
- Walker ER, Friedman MH, Olson NO. Electron microscopic study of an avian reovirus that causes arthritis. *Journal of Ultrastructure Research* 1972; 41: 67-79.
- Wan J, Wang C, Wen X, Huang X, Ling SY, Cao S. Immunogenicity of a DNA vaccine of Avian Reovirus orally delivered by attenuated *Salmonella typhimurium*. *Research in Veterinary Science* 2011; 91(3): 382-3.
- Wood GW, Nicholas RAJ, Hebert CN, Thornton DH. Serological comparisons of avian reoviruses. *Journal of Comparative Pathology* 1980; 90: 29-38.

Wood GW, Muskett JC, Thornton DH. Observations on the ability of avian reovirus vaccination of hens to protect their progeny against the effects of challenge with homologous and heterologous strains. *Journal of Comparative Pathology* 1986; 96: 125-129.

Wu H, Scissum-Gunn K, Singh NK, Giambrone JJ. Toward the development of a plant – based vaccine against reovirus. *Avian Diseases* 2009; 53(3): 376-81.

Wu H, Gunn KS, Singh NK, Locy RD, Giambrone JJ. Yeast derived sigma-C protein-induced immunity against avian reovirus. *Avian Diseases* 2005; 49(2): 284-4.

Yin HS, Lee LH. Development and characterization of a nucleic acid probe for avian reoviruses. *Avian Pathology* 1998; 27: 423-426.

Yu M, Ismail MM, Qureshi MA, Dearth RN, Barnes HJ, Saif YM. Viral agents associated with poult enteritis and mortality syndrome: the role of a small round virus and a turkey coronavirus. *Avian Diseases* 2000; 44: 297-304.

ÖZGEÇMİŞ

1963 yılında Eskişehir’de doğdum. 1986 yılında İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi’nden mezun oldum. 1987 yılında özel sektörde, veteriner ilaç üretip pazarlayan bir firmada teknik sorumlu olarak çalışmaya başladım. 1990 yılından itibaren de aynı sektörde bir başka firmada ilaç ruhsatlandırma ve teknik büro sorumlusu olarak çalıştım. Emekli olduğum 2007 yılı başına dek ise yaklaşık 10 yıl uluslararası bir veteriner ilaç firmasının Türkiye sorumlusu olarak çalıştım. 2008 - 2010 yılları arasında ADU Aydın Veteriner Fakültesi’nde Mikrobiyoloji yüksek lisansı yaptım.

Yabancı dil olarak iyi derecede İngilizce bilmekteyim. Evli ve iki çocuk annesiyim.

TEŞEKKÜR

Danışmanım Yrd. Doç. Dr. Nural EROL'a, örneklemeler konusunda Uzman Veteriner Hekim Güney GÖKÇELİK'e, sonuçların istatistiksel değerlendirmeleri konusunda Yrd. Doç. Dr. Değer ORAL TOPLU'ya sınırsız sabır ve hoşgörü ile yardımlarını esirgemedikleri için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca tüm Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri, Öğretim Yardımcıları ve Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü çalışanlarına öğrenimim boyunca göstermiş oldukları dostça yaklaşım ve sağladıkları kolaylıklar için teşekkür ederim.

EK TABLOLAR

Tablo 1: Bolu ve Balıkesir illerinde aşılı ve aşısız broiler ve broiler damızlıklarda antikor pozitiflik oranları:

	BROİLER								BROİLER DAMIZLIK								Toplam			
	AŞILI				AŞISIZ				AŞILI				AŞISIZ							
	n	Poz.	Neg.	%	n	Poz.	Neg.	%	n	Poz.	Neg.	%	n	Poz.	Neg.	%	n	Poz.	Neg.	%
BALIKESİR	200	156	44	78	138	127	11	92,03	100	80	20	80	-	-	-	-	438	363	75	82,87
BOLU	-	-	-	-	178	139	39	78,10	100	93	7	93	204	183	21	89,70	482	415	67	86,10
Toplam	200	156	44	78	316	266	50	84,18	200	173	27	86,5	204	183	21	89,70	920	778	142	84,56

Tablo 2: Bolu ve Balıkesir illerinde Aşılı ve Aşısız Broiler ve Broiler Damızlıklarda Ortalama Antikor titerleri:

	BROİLER				BROİLER DAMIZLIK			
	AŞILI		AŞISIZ		AŞILI		AŞISIZ	
	n	Ort. Ak. Titre	n	Ort. Ak. Titre	n	Ort. Ak. Titre	n	Ort. Ak. Titre
BALIKESİR	200	3369,3 ± 156,36	138	4613,4 ± 830,51	100	3895,2 ± 255,29	-	-
BOLU	-	-	178	3287,0 ± 180,47	100	5307,1 ± 370,61	204	5110,6 ± 218,30
Tüm grup Ort. Ak Ttreleri	200	3369,3 ± 156,36	316	3866,3 ± 377,74	200	4601,2 ± 229,95	204	5110,6 ± 218,30

n: test edilen örnek sayısı