

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

111605

TAVUKLARDA RASTLANAN KANATLI TÜBERKÜLOZU
ÜZERİNDE BAKTERİYOLOJİK, ALLERJİK, SEROLOJİK VE
EXPERİMENTAL ÇALIŞMALAR

DOKTORA TEZİ

111605

Araştırma Görevlisi
N.YAKUT TEKELİ ÖZGÜR

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
SAGLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Tez Danışmanı
Prof.Dr.ATILLA ILGAZ

İSTANBUL - 1993

TEŞEKKÜR

Çalışmanın tüm aşamalarında her türlü olanağı sağlayan, büyük ilgi ve desteğini gördüğüm Sayın Prof.Dr.Atilla ILGAZ'a,

Araştırmam sırasında bilgi ve deneyiminden yararlandığım merhum Yard. Doç.Dr.Aysan TANTAŞ'a ve Anabilim Dalı arkadaşlarıma,

Serotiplendirme çalışmaları için büyük yardımlarını gördüğüm Prof.Dr.Helga GERLACH'a, Münih Veteriner Fakültesinde doktora çalışmaları yapan arkadaşlarım Araş.Gör.Nezir Yaşar Toker ve Araş.Gör.Serdar Seçkin Arun'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
GİRİŞ.....	1
LİTERATÜR BİLGİSİ.....	2
GEREÇ VE YÖNTEM.....	22
BULGULAR.....	43
TARTIŞMA VE SONUÇ.....	75
ÖZET.....	80
SUMMARY.....	82
KAYNAKLAR.....	84

G İ R İ Ő

Kanatlı tüberkülozu, dünyanın birçok ülkesinde çok eski yıllardan beri bilinen bulaşıcı, kronik seyirli, verimsizlik, zayıflık ve yumurta üretiminde azalma ile karakterize bir hastalıktır.

İnfeksiyona başta tavuk olmak üzere hindi, ördek ve bildircinlerde rastlanmasına karşın son yıllarda ekzotik kafes kuşlarında da sıkça ortaya çıktığı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir.

Dünya nüfusunun giderek arttığı toplumumuzda protein gereksinimi ve açığı, buna bağlı olarak da tavuk etinin önemi belirlenmiştir. Günümüzde gerek yumurtacı gerek etçi olarak uygulanan tavukçuluk, endüstri haline gelmiştir. Bu nedenle ekonomik değerler gözönüne alındığında bu tür işletmelerin bakımının ve hijyenik koşullarının sağlanması ve infeksiyöz hastalıklardan arındırılması gerekmektedir.

Tavuk tüberkülozisi az karşılaşılan hastalıklardan biri gibi görünmesine karşın zoonotik karakter taşıması önemini daha da arttırmaktadır. Bu konuda günümüze dek yapılan araştırmalar oldukça sınırlıdır. Hatta ülkemizde tavuk tüberkülozisi üzerinde yapılmış bilimsel bir araştırma yok denilebilir.

Biz bu araştırmamızda sahadan izole ettiğimiz *M. avium* suşu ile deneysel olarak tavuklarda hastalığın yeniden oluşturulması ve tanıda allerjik, serolojik (lam ve tüp aglutinasyonu) ve ELISA yöntemlerinin karşılaştırmalı şekilde ortaya konmasını düşündük.

LİTERATÜR BİLGİSİ

Tavuk tüberkülozu *Mycobacterium avium* tarafından oluşturulan bulaşıcı ve kronik bir hastalık olup hasta hayvanlarda yumurta üretiminin azalması, aşırı zayıflık, ishal, bazen topallık ve sonuçta ölüm ile karakterizedir(12,27,28,29,51).

İnfeksiyona başta tavuklar olmak üzere hindi, ördek, kaz, bildircin, güvercin, yabani ve yırtıcı kuşlarda rastlanılmaktadır(1,7,37,41,56,69,78). Ayrıca insan, domuz, sığır, koyun, keçi, at, geyik, kedi, mink, kirpi ve maymunlarda da *M.avium* tarafından önemli infeksiyonların oluşturulduğu çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir(2,3,7,10,11,16,22,29,37,38,49,53,55,61,79,95,97).

Tavuk tüberkülozu ilk kez Cornil ve Megnin tarafından 1884 yılında ortaya konmuştur. Koch uzun yıllar süresince tüberküloz basillerinin birbirine benzediğini iddia etmiş ancak sonraki yıllarda Rivolta ve Mafucci (1890) kanatlı tüberküloz etkeninin, sığır tüberküloz etkeninden farklı olduğunu bildirmişlerdir(37,89). Daha sonraları Koch (1902) kanatlı tüberkülozunun insan tüberkülozundan farklı olduğunu ve insanlardaki hastalığın da sığırlarinkinden farklı olduğunu açıklayarak ilk görüşünü değiştirmiştir(37,89).

Ehrlich (1882), tüberküloz etkenlerinin asidorezistans özelliğe olduğu saptamıştır(7). Koch 1890 yılında tüberküloz etkenini gliserinli buyyonda üreterek tüberkulin hazırlamış ve bunun korunma ve sağıtımda kullanılabileceğini düşünmüştür. Ancak yaptığı çalışmalar sonucunda tüberkülinin tanıda çok önemli olduğunu ortaya çıkarmıştır(7).

Nocard ve Roux 1887'de kanatlı tipi tüberküloz etkeninin % 5-7 gliserinli agarda sığır tipine oranla daha iyi ürediğini açıklamışlardır(7).

Kanatlı tüberkülozu 1930 yılının ortalarına kadar Büyük Britanya ve diğer ülkelerde evcil hayvanların yaygın bir hastalığı olarak önemli sorunlara yol açmıştır. Bu yıllardan sonra Sağlık Örgütünün yeni bir düzenleme yapması ve kanatlıların ilk yumurtlama yılı sonunda elden çıkarılmasıyla hastalığın insidensi önemli oranda azalmıştır. Sonraki yıllarda hastalığın küçük kanatlı sürülerinde yeniden ortaya çıktığı saptanmıştır(28). Feldman 1959'da hastalığın insidensinin % 5'den daha az olduğunu belirtmiş, kuzey bölgelerde bunun % 50-65 oranında olduğunu ancak daha sonra 32 yıl boyunca 3.4 milyon sürüye tüberkulin uygulaması sonucunda infeksiyonun ortalama insidensinin % 7'den % 0.6'ya düştüğünü bildirmiştir(96).

Thoen ve Karlson, avian tüberkülozisin dünyanın her yanına dağılmakla beraber kuzey ılıman bölgelerde daha sık görüldüğünü, güney ve batı bölgelerde ise insidensin düşük olduğunu belirtmişler, bu dağılımda iklim, sürü yönetimi, infeksiyonun sürekliliği gibi çeşitli yardımcı faktörlerin yanısıra kanatlıların kış süresince kapalı ve sınırlı alanlarda barındırılmalarının etkili olduğunu açıklamışlardır(89).

Kassich ve ark., Ukrayna'da sığır çiftliklerinde 5 yıl süresince tüberküloz yönünden yaptıkları araştırmada sığırlardan izole edilen Mycobacterium kültürleri arasında M.avium'un % 1.8'lik bir dağılım gösterdiğini bildirmişlerdir(43).

Mutalib ve Riddell, Kanada'da 1969-1986 yılları arasında tavuk tüberkülozu üzerinde yaptıkları epizootiolojik araştırmada karşılaştıkları 152 olgunun, 30-400 tavukluk küçük sürülerde ortaya çıktığını belirtmişlerdir(62).

Araştırmacılara göre kanatlı tüberkülozunun çoğunlukla sindirim yoluyla bulaştığı, bununla beraber ender olarak yumurta ve solunum yoluyla da bulaşma olduğu saptanmıştır(1,28,29,51,89,96).

Shchepilov ve ark., tüberkülin reaksiyonu pozitif tavukların yumurtalarından *M.avium* izole etmişlerdir(1).

Fedoseev, 109 adet embriyolu yumurtanın sarısını *M.avium* ile infekte etmesi sonucunda yalnızca 7 yumurtadan civciv çıktığını saptamıştır. Aynı araştırmacı, yumurta akını infekte ettiği 43 adet embriyolu yumurtadan çıkan civcivlerin hepsinin 13. aya kadar tüberküloz belirtisi göstermeden canlı kaldıklarını bildirmiştir(23).

Stafseth ve ark., deneysel olarak infekte ettikleri 20 tavuktan 6 adedinin yumurtladığı 93 yumurtadan *M.avium* izole etmişlerdir(96). Yine benzer bir araştırmada Shchepilov, tüberkülin testine pozitif reaksiyon gösteren ördeklerden aldığı 18 yumurtanın 7 adedinden *M.avium* izole etmiştir(96).

Kubin ve Matuskova, Çekoslovakya'daki insanlarda 1957-1967 yılları süresince *M.avium* tarafından oluşturulan 44 adet pulmonar ve non-pulmonar hastalık olgusu bildirmişlerdir(52).

Falk ve ark., infekte kanatlı ve memelilerin ve kuş gübresince zengin toprakların infeksiyonun doğal kaynakları olduğunu belirtmişlerdir(22).

Kauker ve Rheinwald, infeksiyon kaynağı olarak tüberkülozlu tavukların yanısıra altlık ve yemler aracılığıyla da bulaşmanın olabileceğini belirtmişlerdir(44).

Gordon ve Jordan, hastalığın bulaşmasında en önemli kaynağın infekte kanatlılar olduğunu, sekonder olarak da etkenin konakçı vücudu dışında canlılığını sürdürmesi nedeniyle hastaların dışkı ve damlacıklarıyla kontamine olan bakıcıların ellerinin, ayaklarının, elbiselerinin ve infekte kanatlılarla kontakt halinde olan altlıklar, kümesler, meralar, ekipman ve araçların rol oynadığını bildirmişlerdir(28).

Thoen ve Karlson, hastalığın infekte olmamış hayvanlara nakledilmesinde en büyük faktörün, basillerin bol miktarda bulunduğu altlık ve toprağı içeren kontamine çevre olduğunu, bunun yanısıra tüberkülozlu kanatlıların karkaslarının, kanibalizmin, avian tüberküloz basillerini içeren fekal içeriğın personel tarafından taşınmasının ve infekte kanatlıların bakım ve korunmasında kullanılan malzemelerin de infeksiyonun taşınmasında rol oynadıklarını vurgulamışlardır(89).

Stanford ve Mujer, yaptıkları bakteriyolojik ve serolojik araştırmalar sonucunda kuşların memeli infeksiyon olgularının yaklaşık % 75'inde infeksiyon kaynağı olabildiğini bildirmişlerdir(80).

Araştırmacılara göre kanatlı tüberkülozunun insidensinde hayvanların yaşı oldukça önemlidir; Hinshaw ve ark., bir yaşı altındaki 11 hindiden birinin (% 9.09), 1-2 yaş arasındaki 24 hindiden 14'ünün (% 58.33), 2 yaşın üzerindeki 43 hindiden 28'inin (% 65.12) tüberkülozlu olduğunu saptamışlardır(36).

Schliesser ve Berger, 53 tavuk kümesinde yaptıkları tüberküloz taraması sonucunda kümeslerin % 81'inde tüberküloz saptamışlar ve kümeslerdeki tavukların % 70'inin 3 yaşlı olmasını gözönüne alarak infeksiyonun yayılmasında yaşlı tavukların rol oynadıklarını belirtmişlerdir(75).

Ashour, genç kanatlıların *M.avium* infeksiyonuna çok duyarlı olduklarını ancak yüksek oranda ölümlerin daha çok yaşlı hayvanlarda oluştuğunu bildirmiştir(8).

Mutalib ve Riddell, Kanada'da 7 yıl süresince yaptıkları araştırmalarda 152 olgudan 74 tanesinde epizootiolojik ve patolojik bulgularla karşılaşmışlar ve hastalığın en çok 12 aylık tavuklarda (31 olgu) oluştuğunu bununla beraber daha yaşlı tavuklarda da infeksiyon görüldüğünü, daha genç tavuklarda ise ender olarak infeksiyon oluştuğunu belirtmişlerdir(62).

Kanatlı tipi tüberküloz etkeni *Mycobacteriaceae* familyasına ait *Mycobacterium* cinsinden *Mycobacterium avium*'dur. Etken ince çomak şeklinde, çoğunlukla uçları yuvarlak, bazen kavisli, 1-3 μ m uzunluğunda, sporsuz, hareketsiz, kapsülsüz, Gram (+) bir mikroorganizmadır ve en tipik özelliği aside dayanıklı olmasıdır(1,6,7,28,51,89,96).

Araştırmacılar avian tüberküloz basillerinin 25-45° C'ler arasında aerobik koşullarda ürediğini belirtmişlerdir(1,6,7,28,39,51,96).

Thoen ve Karlson, avian tüberküloz basillerinin en iyi üreme ısılarının 39-45° C'ler arasında olduğunu bildirmişlerdir(89).

Araştırmacılar *M.avium*'un sığır tipinden farklı olarak özellikle gliserin içeren sıvı ve katı besiyerlerinde ürediklerini, tüm yumurta ya da yalnızca yumurta sarısı içeren besiyerlerinde 37.5-40°C'de inkube edilen bakterilerin çoğunlukla 10 gün-3 hafta içinde küçük, hafif kabarık, grimsi beyaz koloniler oluşturduklarını vurgulamışlardır(1,6,7,51,52,96).

Furth, tipik avian suşların kültürel olarak en iyi gliserinli agarda ürediklerini ve fizyolojik tuzlu suda kolaylıkla emulsiye olduklarını saptamıştır(26). Chiti, çeşitli besiyerlerini kullanarak yaptığı denemelerde kanatlı tüberküloz basillerinin insan ve sığır tipine oranla daha iyi süspanse olduğunu belirtmiştir(17).

Tohen ve Karlson, subkültürlerde kolonilerin çoğunlukla nemli ve yağlı göründüklerini, krem kıvamında ve yapışkan olduklarını ve besiyeri yüzeyinden kolaylıkla kaldırılabilirdiğini gözlemlemişlerdir(89).

Kozinn ve ark., 6 hastanın kemik iliği, bir hastanın dalak kisti sıvısından *M.avium* izolasyonu için Lowenstein-Jensen, Middlebrook 7H10 ve 7H11 agara ekimler yapmışlar, 35-37°C'de iki hafta inkübasyondan sonra Lowenstein-Jensen agarda üreyen kolonilerin pigmentsiz, S-tipinde ve kubbe şeklinde olduğunu, Middlebrook 7H10 ve 7H11 agarda ise kolonilerin mat, yarı şeffaf ya da opak ve kubbe şeklinde olduğunu belirtmişlerdir(49).

Neumann ve Gerlach, *M.avium* izolasyonu için OADC ile zenginleştirilmiş Middlebrook 7H10 agarın kültürasyon açısından en iyi sonucu verdiğini açıklamışlardır(64).

Forster ve ark., 1001 ekzotik kanatlıının karaciğer, dalak ve parankimatöz dokularından tüberküloz yönünden asid-fast boyama yaptıklarında 67 kanatlıda (% 6.7) bol miktarda aside dayanıklı basiller saptamışlar ve Mycobactin-J ilaveli Lowenstein-Jensen besiyeri kullanarak 3 kanatlıdan *M.avium* serotip 2 ve 3 izole etmişlerdir(24).

Araştırmacılar farklı hayvan türlerinden izole ettikleri *M.avium*'un biyokimyasal aktivitelerini incelemişler, sonuçların zayıf ve farklı olduğunu bu nedenle tip ayırımları amacıyla bu özelliklerden yararlanamadıklarını vurgulamışlardır. Araştırmacılar, *M.avium* suşunun biyokimyasal özelliklerinden niasin testinin (-), nitrat redüksiyonunun (-), 68°C'de katalaz testinin (+), Tween-80 hidrolizinin (-), arylsulfataz testinin (-), pigment üretiminin (-), 22°C'de üremenin (-), 37°C ve 40°C'lerde üremenin (+), tellürit redüksiyonunun (+), % 5 NaCl'lü ortamda üremenin (-), MacConkey agarda üremenin (-) olduğunu belirtmişlerdir(1,7,11,15,45,52,71,84,89).

Holub, domuzların lenf nodüllerinden izole ettiği 238 aside dayanıklı suşun 198'ini *M.avium* olarak sınıflandırmış ve bunlardan yalnızca 118 *M.avium* suşunun tipik kültürel ve biyokimyasal özellikler gösterdiğini bildirmiştir(38).

Zorawski ve ark., biyokimyasal özelliklerini inceledikleri 102 suştan yalnızca bir adedinde atipik olarak yüksek derecede katalaz, tween hidrolizi ve nitrat redüksiyon testlerinin pozitif, diğer suşların negatif sonuç verdiğini belirtmişlerdir(100).

Araştırmacılar *M.avium* suşuna etkili fajlar bulunduğunu yaptıkları çalışmalarla saptamışlardır. Takeya ve Yoshimura, izole ettikleri 9 fajdan yalnızca bir adedinin (B_1), 4 adet *M.avium* suşuna etkili olduğunu bildirmişlerdir(83). Froman ve Scammon, 9 adet *M.avium* suşunun değişik ısılar da D29, D29A, D34A, D301, D302, D304 fajlarına karşı duyarlılığını incelemişler, 37°C'de 9 suşun tümünün fajlara dirençli olduğunu, 42°C'de ise 9 suştan 6 adedinin fajlara duyarlı olduğunu belirtmişlerdir(25).

M.avium toprakta 4 yıl, % 3 hidroklorik asitte 2 saat, kanatlı karaslarında 2 yıldan daha fazla yaşayan oldukça dirençli bir mikroorganizmadır(4,37).

M.avium, *M.bovis* ve *M.tuberculosis*'e oranla antitüberkülostatik droglara karşı daha dirençlidir. Thoen ve Karlson, insanlardan izole edilen 11 suş, tavuk ve domuzlardan elde edilen 50 suş üzerinde yaptıkları araştırmalarda egg yolk agarda çoğu suşların mililitre besiyerinde 40 µg izoniazid-den daha fazlasında, ml besiyerinde 10 µg p-aminosalisilik asidden daha fazlasında, ml besiyerinde 10 µg streptomisinde ürediklerini fakat ml besiyerinde 50 µg streptomisinde üremediklerini belirtmişlerdir(89).

Araştırmacılar *M.avium*'un gruplandırılması konusunda çeşitli çalışmalar yapmışlardır;

Furth, avian tüberküloz suşlarının serolojik olarak farklı olduklarını, aglutinasyon ve komplement fikzasyon yöntemiyle yaptığı bir çalışmada 3 subgrup saptadığını belirtmiştir(26).

Stanford ve Muser, insan ve hayvanlardan izole ettiği 100 M.avium-Battey grubu suşu bakteriyolojik ve serolojik yöntemlerle incelemişler ve buna göre tavuk ve tavşanlar için virulent olan tipik M.avium suşlarını 1. subgrup olarak, yalnızca tavuklar için virulent olan M.avium suşlarını 2. subgrup olarak, tavuk ve tavşanlar için virulent olmayan Battey suşlarını 3. subgrup olarak sınıflandırmışlardır(80).

Runyon, M.avium'un yavaş üreyen ve pigment oluşturmayan Non-fotokromojenik grup içinde yer aldığını bildirmiştir(48). Yine Timoney ve ark., M.avium'un yavaş üreyen, pigment oluşturmayan, S-tipi koloni oluşturan, izoniazide dirençli Nonkromojenik grupta yer aldığını belirtmişlerdir(92).

M.avium suşlarının tiplendirilmesi konusunda araştırmacılar tarafından çok yönlü araştırmalar yapılmış ve M.avium'un birçok yerel serotipleri saptanmıştır. Araştırmacılar tiplendirme esnasında çeşitli serolojik yöntemler kullanmışlardır;

Kubin ve Matuskova, 1957-1967 yılları arasında Çekoslovakya'da insanlardan izole ettikleri 44 suşun avian mycobacteriler olduğunu ve bunların % 79.5'unun serotip 1 ve 2'ye ait olduğunu bildirmişlerdir(52).

Griffith, kültürel karakterleri ve virulenslerine göre tiplendirdiği 50 suşun 30 adedinin insan, 15 adedinin sığır ve 5 adedinin avian tipte olduğunu, bu 3 tipin aglutinasyon testi ile birbirleriyle çapraz reaksiyon verdiğini belirtmiştir(30).

Schaefer, kanatlılardan izole edilen *M.avium* suşlarının serotiplendirilmesinde aglutinasyon testini kullanmış, 25 suş üzerinde yaptığı denemede, suşların 12 adedinin tip 1, 13 adedinin tip 2 olduğunu saptamıştır(1).

Marks ve ark., *M.avium*'un 3. bir tipini tanımlamışlar ve *M.avium* tip 1 ve özellikle *M.avium* tip 2'nin yaygın olmasına karşın *M.avium* tip 3'ün dağılımının düzensiz olduğunu bildirmişlerdir(57).

Schaefer, *M.avium*, *M.kansasii* ve *M.balnei*'nin tip-spesifik antiserumlar ile aglutinasyon reaksiyonu sonucu tiplendirilebileceğini belirtmiştir(72).

Schaefer, insan hastalıklarında önemli rol oynayan nonfotokromojenik ve skotokromojenik mycobacterilerin 454 suşu ile hayvanlardan ve kanatlılardan izole edilen 233 nonfotokromojenik mycobacteri suşunu aglutinasyon yöntemiyle serolojik olarak tiplendirmiş ve 20 serotip elde etmiştir. Araştırmacı, tüberkülozlu tavuklardan izole edilen 46 suşun bir tanesi dışında tümünün serotip 1 ya da serotip 2'ye ait olduğunu buna karşın insanlardan serotip 1 ve 2'nin daha az oranda izole edildiğini bildirmiştir(73).

Anz ve Meissner, Schaefer'in aglutinasyon yöntemini kullanarak evcil kanatlılar ve hayvanlardan izole edilen 102 suşun 6 adedinin *M.avium* serotip 1, 89 adedinin *M.avium* serotip 2 ve yalnızca 7 adedinin serotip Davis, Watson ve IV olduğunu saptamışlardır(5).

Engel ve ark., 800 suşu lam aglutinasyon testi ile kısa sürede serotiplendirmişlerdir(21).

Reznikov ve Leggo, Schaefer'in *M.avium* - *M.intracellulare* - *M.scrofulaceum* kompleksi organizmaların serotiplendirilmesi için kullandığı tüp aglutinasyon yönteminin modifikasyonlarını yaparak, bir antiserumu 22 serotipten hazırlamışlar böylece 44 antiserum yerine 22 antiserum hazırlayıp kullanarak bu yöntemin daha kısa ve ekonomik olduğunu belirtmişlerdir(67).

Thoen ve ark., *M.avium* suşlarını serotiplendirmek için hızlı ve ekonomik bir mikroyöntem geliştirmişler ve 91 suşun 84'ünü 20 serotip tanımlayarak identifiye etmişlerdir(87).

Zorawski ve ark., çeşitli hayvanlardan izole ettikleri 275 *M.avium* suşu üzerinde yaptıkları serolojik çalışmada, 21 suşu serotip 1, 241 suşu serotip 2 ve 3 suşu serotip 3 olarak sınıflandırmışlar, 10 suşu serotiplendirememişlerdir. Araştırmacılar tavuklardan izole ettikleri 102 suştan 4 suşu serotip 1, 95 suşu serotip 2 ve 3 suşu rough suş olarak serotiplendirmişlerdir(100).

Akay, aglutinasyon yöntemiyle yaptığı serotiplendirme çalışması sonucunda 22 tüberkülozlu hindiden izole ettiği 16 suşun *M.avium* serotip 2 olduğunu bildirmiştir(1).

Saxegaard, evcil ve yabani hayvanlardan izole ettiği 102 *M.avium* ve *M.avium* benzeri suşu aglutinasyon yöntemiyle serolojik olarak tiplendirmişdir(71).

Lumeij ve Nie, yırtıcı hayvanlarda karşılaşılan tüberküloz olgularında en çok hastalık oluşturan etkenin *M.avium* serotip 2 olduğunu bildirmişlerdir(56).

Yanagihara ve ark., *M.avium-intracellulare-scrofulaceum* kompleks (MAIS) organizmaların glikolipid antijenleriyle yaptıkları ELISA çalışmalarını seroaglutinasyon ve thin-layer kromatografi ile karşılaştırmışlar, seroaglutinasyon ile tiplendirdikleri 60 suşun 45'ini ELISA ile tam olarak

identifiye etmişlerdir. Araştırmacılar başka bir araştırmada ise seroaglutinasyon ile tiplendirilemeyen 43 suşu bu kez ELISA ve thin-layer kromatografi ile denemişler ve 21 suşu tiplendirmişlerdir(98).

Neumann ve Gerlach, değişik türden 216 kanatlı üzerinde yaptıkları çalışmalarda 70 adet *M.avium* suşu izole etmişler ve Gruber-Widal yöntemini kullanarak bu suşları *M.avium* serotip 2 olarak identifiye etmişlerdir(64).

Ishiko ve Shimizu, indirekt fluoresan antikor yöntemini kullanarak yaptıkları tiplendirme çalışması sonucunda, *M.avium*-intracellulare grubu mikroorganizmaların komplemant fikzasyon ve aglutinasyon testlerinde çapraz reaksiyon vermelerine karşın bu yöntemde böyle bir durumun görülmediğini belirtmişlerdir(40).

Bennedsen, 62 adet *M.avium* ve avian benzeri suşun 56'sını immunofluoresence yöntemiyle identifiye etmiştir(13).

Tavuk ve taşvanların *M.avium* suşlarına karşı en duyarlı türler olduğu birçok araştırmacılar tarafından vurgulanmış ancak son yıllarda yapılan çalışmalarda fare ve bildircinların da enfeksiyona duyarlı oldukları bildirilmiştir;

Krause, S ve R-tipi koloni morfolojisi gösteren *M.avium* suşlarıyla tavuklarda yaptığı patojenite denemelerinde R-tipi varyantların S-tipi varyantlara oranla daha patojen olduğunu saptamıştır(50).

Schoop ve ark., 1 mg *M.avium* kültürü ile 3 aylık tavukları intravenöz ve oral yollarla infekte ettikten sonra, kuvvetli derecede pozitif aglutinasyon reaksiyonunun intravenöz injeksiyondan 14 gün sonra, oral infeksiyondan 21 gün sonra oluştuğunu belirtmiştir(77).

Karlson ve ark., Japon bildircininin deneysel avian tüberküloz çalışmaları için kullanışlı olduğunu, 0.01 mg *M.avium*'un intramuskuler ya da intravenöz inokulasyonundan sonra özellikle karaciğer ve dalakta yaygın tüberküloz lezyonları oluştuğunu, İV inokulasyon sonucu oluşan hastalığın, İM inokulasyona göre daha hızlı ilerlediğini belirtmişlerdir(41).

Schaefer, sığır, domuz ve insanlardan izole edilen *M.avium* serotip 2 suşlarının çoğunluğunun tavuklar için patojenik olduğunu, bu infeksiyonun tüberkülozlu tavuklarla kontakt sonucu oluştuğunu öne sürmüştür. Araştırmacı, tüberkülozlu kanatlılardan izole ettiği 8 adet serotip 1 ve 16 adet serotip 2 suşunun tavuklar için patojenitesini deneyerek tümünün patojen olduğunu buna karşın bir tavuktan izole ettiği serotip 3 suşunun patojenik olmadığını saptamıştır(73).

Collins ve ark., *M.avium* ve ilişkili mycobacterilerin deney hayvanları için patojenitelerini araştırmışlar, tipik ve atipik *M.avium* izolatlarının çoğunun tavukları 100 günde öldürdüğünü belirtmişlerdir(18).

Schaefer ve ark., *M.avium*'un farklı suşlarının transparent, opak ve rough varyantlarının patojenitesini saptamak için 10 günlük civcivlere 0.5 ml intravenöz injeksiyon yapmışlar ve bunun sonucunda 7 transparent varyantın hepsinin, 5 opak varyantın yalnızca ikisinin ve 2 rough varyantın tavuklar için patojen olduğunu ve rough varyantların transparent varyantlardan daha şiddetli infeksiyon oluşturduklarını saptamışlardır(74).

Grimes ve ark., 38 adetlik 2 yaşlı evcil bir kanatlı sürüsünden izole ettikleri *M.avium* tip 1 suşunun tavuklar için patojen olduğunu bildirmişlerdir(31).

Yoder ve Schaefer, *M.avium* ve *M.intracellulare*'nin identifikasyonu için, kanatlılar, sığır, domuz ve diğer türlerden izole edilen 188 suşun 31 adedinin *M.avium* serotip 1 olduğunu ve bu 31 suşun 29'unun tavuklar için patojen olduğunu, 127 suşun *M.avium* serotip 2 olduğunu ve bu 127 suşun 126 adedinin tavuklar için patojen olduğunu geriye kalan 30

suşun *M.intracellulare* olduğunu ve bu 30 suşun yalnızca 10 adedinin tavuklar için patojen olduğunu saptamışlardır(99).

Ashour, tavukları *M.avium* ile oral ve intravenöz yollarla infekte etmiş ve oral infeksiyonun daha az morbiditeye neden olduğunu belirtmiştir(8).

Ueda ve ark., C57BL/6 ve BALB/C fare türlerinde *M.avium*'un oluşturduğu intestinal infeksiyonu incelemişler, yüksek bir dozu (10^8) tek dozda intragastrik uyguladıklarında ya da daha az bir dozu (10^7) 10 kez uyguladıklarında özellikle mezenterial lenf nodüllerinde infeksiyon şekillendiğini ve doz uygulamasından 6-8 hafta sonra basillerin fekal salgıyla çıktığını bildirmişlerdir(94).

Engbaek ve ark., farklı hayvanlardan izole ettikleri 120 *M.avium* suşunun patojenitelerini saptamak amacıyla tavuk ve tavşanlara 5 mg miktarlarında intravenöz injeksiyonlar yapmışlar, tavşanların 50 gün, tavukların 60 gün içinde öldüklerini saptamışlardır(20).

Tavuk tüberkülozu, iştahın iyi olmasına karşın yavaş yavaş ilerleyen ve dikkati çeken bir ağırlık kaybı, göğüs kaslarının aşırı zayıflığı ve göğüs kemiğinin çıkıntılı bir hal alması, ibiklerin küçülmesi, ishal ve son dönemlerde çoğunlukla tek taraflı bir topallık ile karakterizedir(1,7,32,37,89,96).

M.avium'un farklı hayvan türlerinde oluşturduğu patolojik bozukluklar çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir;

Hinshaw ve ark., lezyonların 46 hindiden 44'ünde karaciğere (% 95.65), 31'inde dalağa (% 67.39), 21'inde barsaklara (% 45.65), 15'inde akciğerlere (% 32.61), 10'unda mezenteriuma (% 21.74) yerleştiklerini saptamışlardır(36).

Thoen ve ark., *M.avium* serotiplerinin evcil hayvanlarda en çok lenf nodüllerinde yerleşmesinin yanısıra dalak, karaciğerler, akciğerler, böbrekler, merkezi sinir sistemi, safra kesesi, intestinal mukoza, ovaryumlar ve deride yerleşebildiğini belirtmişlerdir(90).

Montali ve ark., 1969-1975 yılları arasında National Zoological Parktaki 137 tüberkülozlu kanatlıda yaptıkları patolojik araştırmalar sonucu hastalığın öncelikle sindirim organları ve dalakta lezyon oluşturduğunu, lezyonların kazeifiye olduğunu fakat kalsifiye olmadığını bildirmişlerdir(59).

Ellsworth, 5-8 haftalık domuzlara oral yolla 10^8 canlı ünitede *M.avium* inokulasyonundan 70-79 gün sonra yaptığı otopside tonsillerde, jejunum ve ileumun lenfatik folliküllerinde (peyer plakları), ileumda ileosekal ventiller ve sekumda granülamatöz lezyonlar saptamıştır(19).

Mutalib ve Riddell, 152 tavuk tüberkülozu olgusundan 74'ünde patolojik bulgularla karşılaşmışlar ve lezyonların 70 tavukta karaciğerlere, 65 tavukta dalağa, 52 tavukta barsaklara, 41 tavukta kemik iliğine, 23 tavukta akciğerlere, 8 tavukta mezenteriumlara, 3 tavukta kalbe, iki tavukta böbreklere ve iki tavukta ovaryumlara yerleştiğini saptamışlardır(62).

Akay, 22 tüberkülozlu hindiye yaptığı otopsiler sonucunda lezyonların 18 hindide karaciğerlere (% 81.8), 17 hindide dalağa (% 77.2), 11 hindide akciğerlere (% 50), 5 hindide barsaklara (% 22.7), bir hindide bezli mideye (% 4.5), bir hindide kalbe (% 4.5) ve iki hindide böbreklere (% 9.09) yerleştiğini saptamıştır(1).

M.avium suşlarının tavuklar ve farklı hayvan türlerinin çeşitli organlarından izolasyonu birçok araştırmacı tarafından gerçekleştirilmiştir;

Cassidy ve ark., ABD'nin 24 eyaletindeki 103 sığırın çeşitli organ ve dokularından *M.avium* izole etmişlerdir(16).

Barton ve Acland, bir koyunun ince barsakları ve mezenterik lenf nodülünden *M.avium* serotip 2 izole ettiklerini bildirmişlerdir(11).

Smith ve ark., çeşitli türdeki *Macaca* maymunlarının ince barsak, kolon ve mezenterik lenf nodüllerinden *M.avium* serotip 1 ve 2 izole etmişlerdir(79).

Falk ve ark., bir kadının lenf nodülleri, kemik iliği, idrar ve tükürüğünden *M.avium* serotip 1 izolasyonunu gerçekleştirmişlerdir(22).

Baker, yaşlı bir kısrakta *M.avium* tarafından oluşturulan generalize bir tüberküloz olgusu bildirmiştir(10).

Matthews ve McDiarmid, serbest yaşayan bir kirpinin mezenterik lenf nodüllerinden *M.avium* serotip 2 izole ettiklerini belirtmişlerdir(58).

Roffe, 3 adet yabancı ördeğin polikistik karaciğerinden *M.avium* izole etmiştir(69). Yine Grimes ve ark., yabancı bir ördeğin karaciğer, kalp ve böbreklerinden *M.avium* tip 1 izole etmişlerdir(31).

Odiawo ve Mukurira, aşırı zayıflık, kronik diare, tortikollis ve felç semptomları gösteren 21 aylık bir tavuğun akciğer ve karaciğerlerinin yanısıra beyninden de *M.avium* izole etmişler ve bu semptomların görüldüğü ergin kanatlılarda serebral avian tüberkülozun ayırıcı tanısı olarak düşünülmesi gerektiğini belirtmişlerdir(65).

Morfitt, 7 aylık bir kedinin akciğer, karaciğer, dalak, tracheobronchial ve mezenterik lenf nodüllerinden *M.avium* serotip 1 izole etmiştir(60).

Wards ve ark., sığır tüberkülinine reaksiyon veren geyiklerin özellikle baş bölgesindeki lenf nodülü sıvılarından *M.avium* ve *M.intracellulare* suşlarının izolasyonunu gerçekleştirmişlerdir(95).

Thoen ve ark., bir domuzun mezenterik ve servikal lenf yumrularından *M. avium* serotip 8 izole etmişlerdir(88).

Tavuk tüberkülozunun tanısında birçok araştırmacılar tarafından ortaya çıkarılan çeşitli serolojik testler ve allerjik yöntemler kullanılmaktadır;

Avian tüberkülozun aglutinasyon yöntemiyle tanısı ilk kez Moses ve ark. tarafından yapılmıştır. Araştırmacılar yaptıkları çalışmada aglutinasyon ve tüberkülin testlerini karşılaştırmışlar ve sonuçların birbirine uyduğunu saptamışlardır(61).

Karlson ve ark., kanla çabuk aglutinasyon testi ile tüberkülin testini karşılaştırmışlardır. Araştırmacılar 282 tavuk üzerinde yaptıkları çalışmada 44 tavuğun hem aglutinasyon hem de tüberkülin testine pozitif reaksiyon verdiklerini buna karşın tüberkülin testine negatif reaksiyon veren 14 tavuğun aglutinasyon testine pozitif reaksiyon verdiğini saptamışlar, sonuçta kanla çabuk aglutinasyon testinin daha kısa sürede yanıt verdiğini ve infekte sürüleri ortaya çıkarmada kolaylık sağladığını açıklamışlardır(42).

Prochorow, tüberkülin testinin portörleri saptamada uygun olmadığını ve iyi sonuç vermediğini bildirmiştir. Araştırmacı 23355 tavuğa uyguladığı tüberkülin sonucu, bunlardan % 3.2'sinin pozitif reaksiyon verdiğini, geriye kalan 22599 tüberkülin negatif tavuktan ise % 8.4'ünün kanla çabuk aglutinasyon ile pozitif reaksiyon verdiğini saptamıştır(66).

Tunkl, izole ettiği 77 avian tipi suştan bir tanesini antijen hazırlanmasında kullanarak yaptığı denemelerde, aglutinasyon testinin daha pratik olduğunu bildirmiştir(93).

Klein ve Steffke, 4962 tavuğa uyguladıkları tüberkülin testi sonucunda 265 hayvanın pozitif reaksiyon verdiğini, tüberkülin pozitif olan 200 tavuğa yaptıkları otopsi sonucunda 90 tavukta tüberküloz lezyonu saptadıklarını belirtmişlerdir(47).

Halik, lam aglutinasyon testini tüberkulin testiyle karşılaştırmış ve lam aglutinasyonunun daha hassas ve spesifik olduğunu bildirmiştir(34).

Hiller, 118 tavuktan kan alarak kendi hazırladığı antijenle çabuk lam aglutinasyonu uyguladığında 55 tavuğu pozitif bulduğunu ve bu hayvanların otopsilerinde 48 adedinin lezyonlu olduğunu saptamıştır. Buna karşın aynı hayvanlara tüberkulin testi uyguladığında yalnızca 13 adedini pozitif bulduğunu ve sonuçta serolojik yöntemin allerjik yöntemden daha iyi sonuç verdiğini belirtmiştir(35).

Schliesser ve Hiller, kanatlılardan izole ettikleri 25 avian tüberküloz suşundan bir tanesini antijen hazırlanmasında kullanmışlar ve hazırladıkları antijenle 129 tavukta denedikleri kanla çabuk aglutinasyon testinde 105 hayvanı pozitif bulmuşlar, bu hayvanlara yaptıkları otopsi sonucunda 103 tavukta tüberküloz lezyonları saptamışlardır(76).

Schliesser ve Berger, 2428 tavuğa çabuk lam aglutinasyonu ve tüberkulin testleri uygulayarak yaptıkları tüberküloz taraması sonucunda 308 tavuğun (% 12.7) aglutinasyon ile pozitif, 160 tavuğun (% 6.6) tüberkulin testi ile pozitif reaksiyon verdiğini bildirmişlerdir(75).

Nassal, 1959-1963 yılları arasında 345 avian suş izole ederek bunların yalnızca iki tanesini antijen hazırlanmasında kullanmış ve bu antijenlerle 1720 tavuğa tanı amacıyla çabuk lam aglutinasyon testi ve ayrıca tüberkulin testi uyguladığında 221 tavuğun (% 12.8) aglutinasyon testinde pozitif, 67 tavuğun (% 3.9) tüberkulin testinde pozitif reaksiyon verdiklerini saptamış ve aglutinasyon testinin tavuklarda tüberkülozun tanısında daha uygun olduğunu bildirmiştir(63).

Betke ve ark., Lowenstein - Jensen besiyerinde izole ettikleri 25 avian tipten 22 adedinin spontan aglutinasyon verdiğini, diğer 3 suşun homojen bir süspansiyon oluşturduğunu saptamışlardır. Araştırmacılar 3208 tavuğun kanlarını alarak kendi hazırladıkları antijenle yaptıkları çabuk lam aglutinasyon testinde 151 tavuğu (% 4.7) pozitif bulmuşlardır. Ayrıca

tavuklara tüberkulin testi de uygulamışlar ve bunun sonucunda 186 tavuğu (% 5.8) pozitif bulmuşlardır(14).

Richter, 1438 tavuğa, kanatlı tüberkülozunun tanısı için kendi hazırladığı antijenle aglutinasyon testi uygulamış ve 1438 tavuktan % 6.8'ini pozitif bulmuştur. Araştırmacı tavuklara tüberkulin testi uyguladığında % 10.3'ünü pozitif bulmuş ve bu sonuçlara dayanarak kanatlı tüberkülozunun tanısında tüberkulin testi kadar aglutinasyon testinin de iyi sonuç verdiğini, aglutinasyon testinin daha kısa sürede sonuç verdiğinden tercih edilebileceğini belirtmiştir(68).

Stoll, tüberkülozdan şüpheli 8 sürüden 520 tavuğa uyguladığı kanla çabuk aglutinasyon testi sonucunda 54 tavuğun (% 10.39) pozitif reaksiyon gösterdiğini bildirmiştir(81).

Schliesser ve Hiller, deneysel olarak infekte ettikleri 129 adet tavuğa 0.1 ml tüberkulin uygulamışlar ve 129 tavuktan 29'unu pozitif bulduklarını belirtmişlerdir(76).

Keyhani, D4ER suşuyla aglutinasyon antijeni hazırlayarak bunu deneysel olarak infekte ettiği 10 tavuğun serumunda deneğinde hepsinin pozitif sonuç verdiğini, bir küme bulunan 165 tavuk üzerinde yaptığı denemelerde ise 25 tavuğun pozitif sonuç verdiğini, bunlardan 11 adedinin otopsilerinde tüberküloz lezyonlarına rastlamadığını ve bu hayvanların organlarından yaptığı ekimlerde üreme olmadığını belirtmiş, bu sonuçlara göre sağlıklı hayvanların serumlarının da aglutinasyon testiyle pozitif sonuç verebileceğini açıklamıştır(46).

Başkaya ve ark., *M. avium* ile deneysel olarak infekte ettikleri 25 tavuktan % 64'ünün tüberkulin testiyle, % 84'ünün kanla çabuk aglutinasyon testiyle pozitif sonuç verdiklerini bildirmişlerdir(12).

Kwatra ve ark., pasif hemaglutinasyon testinin ördeklere tüberkülozun tanısı için çok yararlı olan bir yöntem olduğunu belirtmişlerdir(54).

Tohen ve ark., *M.avium* serotip 8'in canlı ve ölü hücreleri ile deneysel olarak infekte ettikleri domuzlarda tüberkülin testi ile invitro lenfosit immunostimulasyon test sonuçlarını karşılaştırmışlar ve canlı mikroorganizmalar ile inokule ettikleri domuzlarda her iki testin sonuçlarının pozitif, öldürülmüş bakteri hücresi inokule ettikleri domuzlarda ise sonuçların negatif olduğunu saptamışlardır(88).

Tohen ve ark., *M.avium* serotip 2 ile infekte ettikleri 8 tavuğun serumlarındaki antikoları saptamak için Enzyme-Labeled Antibody (ELA) testini kullanmışlar ve infeksiyondan sonraki 2, 4, 6 ve 8. haftalarda tavuklardan elde ettikleri serumlarda pozitif sonuçlar gözlemişlerdir. Araştırmacılar ELA testinin infekte hayvanları saptamada hızlı, basit ve pratik bir yöntem olduğunu belirtmişlerdir(86).

Tohen ve ark., tüberkülozlu ekzotik memelilerin serumlarında antikoları saptamak için ELISA yöntemi uygulamışlar ve konjugat olarak horseradish peroksidaz ile işaretlenmiş protein A kullanmışlardır. Araştırmacılar elde ettikleri sonuçlara göre tüberkülozlu ekzotik hayvanların antikolarının saptanmasında enzimle işaretlenmiş protein A'nın kullanılabileceğini açıklamışlardır(91).

Tohen ve ark., *M.avium* serotip 4/8 ile deneysel olarak infekte ettikleri domuzlardan aldıkları kan serumlarında antikoları saptamak için ELISA yöntemi kullanmışlar, farklı dozlarda ve değişik yollarla inokulasyon yaptıkları 3 gruba ait domuzun herbirinin serumlarında inokulasyon sonrası 2,4,6,8 ve 10. haftalarda, bu domuzlarla aynı ortamda bıraktıkları bir gruba ait iki domuzun serumlarında ise 4,6,8 ve 10. haftalarda pozitif ELISA reaksiyonları saptamışlardır(85).

Bilim adamları kanatlı tüberkülozunun ortadan kaldırılması için hasta hayvanların saptanarak yok edilmeleri, infekte kümeslerin çok iyi dezenfekte edilerek bir süre boş bırakıldıktan sonra kümese hayvan alınması, sürüdeki tüm kanatlıların ilk yumurtlama mevsiminden sonra elden çıkarılması, yaşlıların gençlerden ayrılması, sağlıklı sürülerin zaman zaman serolojik ve allerjik testlerle yoklanması gerektiğini vurgulamışlardır(1,7,9,27,28,37,89,96).

Guindi, tavukların tüberküloza karşı korunmalarını sağlamak için bir çalışma yapmıştır. Araştırmacı 20 tavuğun 10 adedine BCG aşısı, 10 adedine ise ısı ile öldürülmüş aşıdan derialtı ve damariçi yollarla injeksiyonlar yapmış sonuçta verilen her iki aşınında bağışıklık sağladığını, derialtı verilen BCG'nin az, ölü aşının ise hiç bağışıklık sağlamadığını bildirmiştir(33).

Rossi, 49 piliç ve 39 yavru horozu M.avium ve M.intracellulare serotip VI, VII ve Darden kültürlerinden hazırladığı 4 inaktif ve M.intracellulare serotip VI, VII ve Darden kültürlerinden hazırladığı 3 canlı aşı ile kas içi ve oral yollarla aşılamış, en iyi sonuçları canlı M.intracellulare serotip VI aşısı ile oral yolla aşıladığı kanatlılarda aldığını belirtmiştir(70).

GEREÇ VE YÖNTEM

GEREÇLER

1- Deneme hayvanları: Çalışmada kullanılan toplam 39 adet 1.5 yaşlı, pullorum yönünden negatif ve tüm aşuları yapılmış olan yumurtacı tavuklar TARHAY A.Ş.'den sağlandı. Deneme öncesi tüm hayvanlara tüberkülin uygulanarak tüberküloz yönünden de negatif oldukları saptandı.

2- Patojenite denemelerinde kullanılan hayvanlar:

a- Tavuklar: İzole edilen suşların patojenite denemeleri için Anabilim Dalımız Deneme Hayvanları Bölümünden sağlanan tüberküloz yönünden negatif ve sağlıklı 2 yaşlı yumurtacı tavuklar kullanıldı.

b- Tavşanlar: İ.Ü.Veteriner Fakültesi Suni Tohumlama ve Reprodüksiyon Bilim Dalı Deneme Hayvanları Bölümünden sağlanan, sağlıklı 2.5 yaşlı Yeni Zelanda tavşanları patojenite denemelerinde kullanıldı.

3- Avian PPD tüberkülin: Deneme öncesi ve sonrası tavuklara uygulanan avian PPD tüberkülin Etlik Vet.Kont.Araş.Ens.den sağlandı.

4- Çalışmada kullanılan M.avium suşu: Çalışmamızda 8 Eylül 1989 yılında 100 adetlik ekstansif tipte tavukçuluk yapan bir kişi tarafından Anabilim Dalımıza getirilen 10 adet ölü hayvana yapılan otopsi ve bakteriyolojik yoklamalar sonucu izole edilen M.avium Y-1 suşu kullanıldı.

5- Serumlar: Deneme infeksiyonu oluşturulduktan sonra tavuklardan alınan kanların serumları santrifüjle ayrılarak serolojik çalışmalarda kullanılıncaya kadar derin dondurucuda saklandı.

6- Besiyerleri: Çalışmamızda izolasyon amacıyla Lowenstein-Jensen besiyeri, antijen hazırlanması amacıyla Middlebrook 7H10 agar kullanıldı.

İzole edilen suşların bazı biyokimyasal özelliklerini saptamak için ayrıca Middlebrook 7H9 broth, üreli sıvı besiyeri ve MacConkey agar (kristal viyoletsiz) kullanıldı.

Lowenstein - Jensen Besiyeri (HI-MEDIA)

a- Temel besiyeri:

Asparagin.....	3.6 g
KH ₂ PO ₄	2.4 g
MgSO ₄ . 7H ₂ O.....	0.24 g
Magnesium citrate.....	0.6 g
Patates unu.....	30 g
Malachite green.....	0.4 g
Saf Su (12.5 ml glycerol içeren).....	600 ml

37.3 g Lowenstein-Jensen besiyeri 12.5 ml gliserol içeren 600 ml saf suya karıştırılarak eriyinceye kadar kaynatıldı ve 121°C'de 15 dakika süreyle otoklavda sterilize edildi.

b- Homojenize yumurta emülsiyonu (1000 ml):

20 adet yumurta yumuşak tüylü bir fırça yardımıyla sabunlu suyla yıkandı. Hepsi tentürdiyotla silindikten sonra % 70'lik alkolde 5 dakika bekletildi. Yumurtaların her iki tarafı steril sivri uçlu bir pensle delinerek içinde cam boncuklar bulunan steril bir balona konularak homojenize edildiler. Elde edilen emülsiyon steril gazlı bezden süzülerek daha önce hazırlanmış olan temel besiyerine ilave edildi. Besiyeri tüplere dağıtıldı. 80°C'deki su banyosunda yatık durumda günde bir saat olmak üzere iki gün üst üste tindalizasyon yöntemiyle sterilize edilerek kullanıma hazırlandı.

Middlebrook 7H10 Agar (DIFCO)**a- Temel besiyeri**

Ammonium sulfate	0.5 g
KH ₄ PO ₄	1.5 g
Na ₂ HPO ₄	1.5 g
Sodium citrate	0.4 g
Magnesium sulfate.....	0.025 g
CaCl ₂	0.0005 g
ZnSO ₄	0.001 g
CuSO ₄	0.001g
L-Glutamic acide	0.5 g
Ferric ammonium citrate.....	0.04 g
Pyridoxine.....	0.001 g
Biotin	0.0005 g
Malachite green.....	0.00025 g
Agar	15 g
Saf su (4 ml. glycerol içeren).....	900 ml

b- OADC (Oleic Acide Dextrose Citrate) Zenginleştirici Sıvı:

Oleic acide.....	0.05 g
Sığır albumin V fraksiyonu.....	5 g
Dextrose.....	2 g
NaCl.....	0.85 g
Saf su.....	100 ml

OADC zenginleştirici sıvısı, 56°C'lik su banyosunda günde bir saat olmak üzere iki gün üst üste ısıtılarak tinalizasyon yöntemiyle sterilize edildi.

Besiyerinin Hazırlanışı:

19 g Middlebrook 7H10 agar 4 ml gliserol içeren 900 ml saf suya karıştırılarak eriyinceye kadar kaynatıldı. 121°C'de 15 dakika süreyle otoklavda sterilize edildi. 50-55°C'e kadar soğutulduktan sonra besiyerine daha önceden steril olarak hazırlanan OADC zenginleştirici sıvısından 100 ml

miktarında steril koşullarda ilave edildi. Besiyeri 100 ml miktarlarında doku kültürü şişelerine bölünerek yatık agar şeklinde kullanıma hazırlandı.

Middlebrook 7H9 Broth (DIFCO)

a- Temel besiyeri:

Ammonium sulfate	0.5 g
L-Glutamic acide	0.5 g
Sodium citrate	0.1 g
Pyridoxine	0.001 g
Biotin	0.0005 g
Disodium phosphate	2.5 g
Monopotassium phosphate	1 g
Ferric ammonium citrate	0.04 g
Magnesium sulfate	0.05 g
Calcium chloride	0.0005 g
Zinc sulfate	0.001 g
Copper sulfate	0.001 g
Saf su (2 ml glycerol içeren)	900 ml

b- OADC Zenginleştirici Sıvısı

Besiyerin Hazırlanışı:

4.7 g Middlebrook 7H9 broth 2 ml gliserol içeren 900 ml saf suya karıştırılarak eriyinceye kadar kaynatıldı. 180'er mililitre miktarlarında 250 cc'lik balonlara dağıtıldı. Otoklavda 121° C'de 15 dakika sterilize edildi. 50-55° C'e kadar soğutulduktan sonra besiyerinin dağıtılmış olduğu her balona daha önceden steril olarak hazırlanmış olan OADC zenginleştirici sıvısından 20'şer mililitre miktarlarında steril koşullarda ilave edilerek kullanıma hazırlandı.

Üreli Sıvı Besiyeri:**a- Üre baz konsantresi:**

Peptone.....	1 g
Dextrose.....	1 g
NaCl.....	0.5 g
KH ₂ PO ₄	2 g
Üre.....	20 g
% 1'lik fenol kırmızısı.....	1.2 ml

Maddeler karıştırılarak saf su ile 100 ml'ye tamamlandı ve eridikten sonra filtrasyonla sterilize edildi.

b- Üreli sıvı besiyeri:

Bir kısım üre baz konsantresi üzerine aseptik koşullarda 9 kısım steril saf su eklendi. Ağzı kapaklı tüplere 4'er ml dağıtılarak kullanıma hazırlandı.

MacConkey Agar (Kristal viyoletsiz):

Pepton.....	17 g
Polypeptone.....	3 g
Laktoz.....	10 g
Safra tuzları.....	1.5 g
NaCl.....	5 g
Agar.....	13.5 g
Nötral kırmızısı.....	0.03 g
Saf su.....	1000 ml

Pepton ve polypepton 900 ml saf suda süspanse edildi. İçine NaCl, agar ve safra tuzları ilave edilerek 15-20 dakika bekletildi, kaynatılarak eritildi. pH'si 7.1'e ayarlandı. Sıcak saf su ile 1000 ml'ye tamamlanarak nötral kırmızısı ilave edildi. Hazırlanan besiyeri 121° C'de 15 dakika süreyle otoklavda sterilize edildi. 50-55° C'e kadar soğuyunca petri kutularına dağıtıldı.

YÖNTEMLER

İzolasyon ve İdentifikasyon Çalışmaları:

İnokulum hazırlanması:

Anabilim Dalımıza 8.10.1989 yılında, ekstansif tipte yetiştiricilik yapılan bir çiftlikten getirilen 10 adet ölü tavuğa otopsi yapılarak lezyonların özellikle yoğun olduğu karaciğer ve dalak örnekleri steril koşullarda petri kutularına alındılar ve % 4 NaOH yöntemi ile aşağıdaki şekilde hazırlandılar.

Her tavuğa ait lezyonlu organlardan alınan küçük parçalar ayrı ayrı steril havanda ezilerek üzerlerine 1/5 oranında % 4 NaOH katıldı ve homojenizatörde homojen hale getirildikten sonra 37°C'lik etüvde 30 dakika bekletildiler. Bu süre sonunda süspansiyonlar steril santrifüj tüplerine alınarak 20 dakika süreyle 3500 dev/dak.da santrifüje edildiler. Üst sıvılar atılarak tortular birer ml saf su ile süspanse edildiler ve % 10 HCl ile pH'ları 7.2 - 7.3'e ayarlandı. Her tavuktan ayrı olarak hazırlanan inokulumlardan kontaminasyon yönünden kanlı agar besiyerlerine ekimler yapıldı.

Besiyerlerine ekim

Yukarıdaki yönteme göre hazırlanan ve sterilite kontrolü yapılan inokulumlardan Lowenstein-Jensen besiyerlerine 0.1'er mililitre miktarlarında ekimler yapıldı.

İdentifikasyon çalışmaları 5 aşamada yapıldı:

- 1- Bakterioskopi
- 2- Kültür
- 3- Biyokimyasal özelliklerin saptanması
- 4- Patojenite denemeleri
- 5- Allerjik ve serolojik testler

1- Bakterioskopi:

Anabilim Dalımızda getirilen 10 adet ölü tavuğa yapılan otopsi-ler sonucunda her tavuğun lezyonlu organlarından sürme preparatlar hazır-
lanarak Ziehl-Neelsen boyama yöntemiyle boyandı.

2- Kültür

Ekim yapılan tüpler 37°C ve 42°C'lerde, aerobik koşullarda inku-
basyona bırakıldılar. İlk 24 saat yatık olarak tutulan tüpler bu süre sonun-
da dik duruma getirildiler. 5-8 haftalık inkubasyon süresi sonunda üreme-
nin görüldüğü besiyerlerindeki koloniler morfolojik yönden, boyanma özel-
likleri ve fizyolojik tuzlu suda süspansiyon oluşturmaları yönünden incelen-
diler.

Üreme görülen besiyerlerindeki kolonilerin bir süre sonra yine
Lowenstein-Jensen besiyerlerinde subkültürleri yapıldı. Tüplerin bir kısmı-
nın ağzı parafilm ile diğer bir kısmının ağzı ise parafin dökülerek kapatıl-
dı. Tüpler 37 ve 42°C'lerde inkubasyona bırakıldı.

Ayrıca üreme görülen besiyerlerinden temiz lamlar üzerine steril
koşullarda öze yardımıyla alınan koloniler kültürlerin saflığı yönünden
Gram boyama yöntemiyle boyanarak mikroskopta incelendiler.

3- Biyokimyasal Özelliklerin Saptanması

İzole edilen suşların biyokimyasal özelliklerinin saptanması için
Bilgehan'ın belirttiği yöntemler uygulandı(15).

3.1. Katalaz Deneyi:

A- Oda ısısında yapılan katalaz deneyi:

Ayırıklar:

a- % 10 Tween-80 ayırıcı

Tween-80	10 ml
Saf su	90 ml

b- Superoxol → % 30 hidrojen peroksit

Bir kısım % 10 Tween-80 ayırıcı ile bir kısım superoxol karıştırılarak Tween-Peroksidaz ayırıcı elde edildi ve deney anında taze olarak hazırlandı.

Lowenstein-Jensen besiyerinde üremiş olan kolonilerin üzerine 1 ml Tween-Peroksidaz ayırıcı katılarak 5 dakika içinde kabarcıkların oluşmasına göre reaksiyon değerlendirildi.

B- 68°C'de ısıtılmış bakterilerle yapılan katalaz deneyi:

Ayırıklar:

a- Tween - peroksidaz ayırıcı

b- Fosfat tampon eriyiği (pH:7)

A- Na ₂ HPO ₄	9.46 g
	M/15 Na ₂ HPO ₄

Saf su ile 1000 ml'ye tamamlandı

B- KH ₂ PO ₄	9.073 g
	M/15 KH ₂ PO ₄

Saf su ile 1000 ml'ye tamamlandı

6 ml A eriyiği, 4 ml B eriyiği ile karıştırılarak pH:7 fosfat tampon eriyiği elde edildi.

Lowenstein-Jensen besiyerinde üremiş olan kültürlerden birkaç koloni alınarak steril bir tüpte 0.5 ml fosfat tampon eriyiği ile karıştırıldı. Elde edilen süspansiyon 68°C'lik su banyosunda birkaç dakika bekletildikten sonra oda ısısında soğutuldu. Üzerine 0.5 ml Tween-peroksidaz eriyiği katılarak 20 dakikada kabarcık oluşumuna göre reaksiyon değerlendirildi.

3.2. Niasin Deneyi (Kağıt şerit yöntemi ile)

Ayıraçlar

a- Anilin alkolik eriyiği

Anilin	4 ml
% 95'lik alkol	96 ml

b- Niasin kağıt şeritleri

Lowenstein-Jensen besiyerinde üretilmiş olan 4 haftalık kültürler kullanıldı. Besiyeri içine 1 ml saf su konuldu. Koloniler öze ile yerlerinden kaldırılıp kenara çekilerek suyun koloni altındaki besiyerine teması sağlandı. Besiyeri 36°C'de bir saat yatık olarak bekletildi. Bu süre sonunda besiyerinden 0.5 ml sıvı, tüpe alınarak üzerine 0.5 ml anilin alkolik eriyiği ilave edildi. Hemen ardından tüp içine niasin kağıt şeridi atılarak 1-2 kez çalkalandı. 25 dakika süreyle sarı rengin oluşup oluşmaması yönünden izlendi

3.3. Tween-80 Hidrolizi Deneyi

Ayıraçlar:

Fosfat tampon eriyiği (pH:7)	100 ml
Tween-80	0.5 ml
% 1'lik nötral kırmızısı eriyiği	2 ml

Ayır a lar karıştırılarak birer ml. miktarlarında tüplere dağıtıldı ve otoklavda 121° C'de 15 dakika sterilize edildi. 1 ml ayır a  içine bir öze dolusu koloni karıştırılarak 37°C'de inkube edildi. Birinci, 5. ve 10. günlerde renk değişimi kontrol edilerek reaksiyon değerlendirildi.

3.4. Tellürit Redüksiyon Deneyi:

Ayır a :

% 1'lik potasyum tellürit eriyiği..... 20 ml

% 1'lik potasyum tellürit eriyiği deney öncesi taze olarak hazırlandı ve ikişer ml. miktarında k  k şişelere konuldu. Otoklavda 121° C'de 15 dakika sterilize edildi.

Middlebrook 7H9 sıvı besiyerinde hafif bulanıklık gösteren 7 günlük kültürlere iki damla % 1'lik potasyum tellürit eriyiği damlatıldı ve 4 gün süreyle yeniden 37°C'de inkube edildi. Kültürler hergün incelenerek siyah renkli bir  okelti oluşup oluşmamasına göre reaksiyon değerlendirildi.

3.5. % 5 Sodyum Klorür'l  Ortamda  retme Deneyi:

Lowenstein-Jensen besiyerinde daha önce üremiş olan kolonilerin fizyolojik tuzlu suda süspansiyonu yapılarak % 5 NaCl içeren Lowenstein-Jensen besiyerine 0.1'er ml miktarında ekimler yapıldı. Tüpler 37°C'de 4 hafta inkube edildiler. Bu s renin sonuna kadar her hafta kontrol edilerek üremenin olup olmamasına göre değerlendirildiler.

3.6. Nitrat Redüksiyon Deneyi:

Ayır a lar

- a- Yoğun HCl'in 1/2 sulandırımı
- b- % 0.2'lik sufamilamid eriyiği
- c- % 0.1'lik N-ethylenediamine dihydrochloride eriyiği

d- M/45 fosfat tampon eriyiği (pH:7) içinde 0.01 M NaNO₃ eriyiği

NaNO ₃	0.085 g
KH ₂ PO ₄	0.117 g
Na ₂ HPO ₄ . 12H ₂ O	0.485 g
Saf su.....	100 ml

2 ml NaNO₃ eriyiği (d) bir tüpe konularak içine bir öze dolusu koloni karıştırıldı. Süspansiyon 37°C'lik su banyosunda iki saat bekletildi. zerine bir damla HCl eriyiği (a) damlatılarak karıştırıldı. nce iki damla sulfanilamid eriyiği (b), sonra iki damla N-ethylenediamine dihydrochlorid eriyiği (c) damlatılarak pembe-kırmızı rengin oluşup oluşmamasına göre reaksiyon değerlendirildi.

3.7. MacConkey Agar'da reme Deneyi:

İçerisinde kristal viyoret bulunmayan Mac Conkey agara, Middlebrook 7H9 broth'da üreyen kültürden ze ile alınarak ekim yapıldı. Besiyeri 35°C'de 5-11 gün inkubasyona bırakıldı.

3.8. Üreaz Deneyi

Üreli sıvı besiyerine bir öze dolusu koloni karıştırılarak emülsiyeye edildi. 37° C'de 3 gün inkubasyona bırakılan besiyeri hergün kontrol edildi. Bu süre içinde pembe-kırmızı rengin oluşup oluşmamasına göre reaksiyon değerlendirildi.

4. Patojenite Denemeleri

Anabilim Dalımıza getirilen tavuklardan izole edilen 2 suşun patojenitesini saptamak amacıyla iki adet tavuk, iki adet tavşan kullanıldı.

İzole edilen 2 suşun fizyolojik tuzlu suda ayrı ayrı süspansiyonları (1 mg/1ml) hazırlanarak, tavuklara intravenöz yolla, tavşanlara intrapeitoneal yolla 0.1'er ml miktarlarında inokulasyon yapıldı.

Patojenite denemeleri için inokulasyon yapılan tavuk ve tavşanlar klinik olarak gözetim altına alındılar.

5. Serolojik ve Allerjik Testler:

Anabilim Dalımıza getirilen tavuklardan izole edilen M.avium Y-1 suşu ile 34 adet tavukta deneme infeksiyonu oluşturularak hayvanlara 3 hafta sonra tüberkülin testi uygulandı. Aynı zamanda hayvanların kanları alınarak serumları ayrıldı ve bu serumlarla çabuk lam aglutinasyon testi, yavaş tüp aglutinasyon testi ve ELISA yapıldı. Hayvanlar deneysel olarak infekte edilmeden önce izole edilen M.avium Y-1 suşunun tiplendirme çalışması yapıldı.

Tiplendirme Çalışmaları: Tiplendirme çalışmaları iki şekilde yapıldı.

- a- İzole ettiğimiz M.avium Y-1 suşu ile antijen hazırlandı. Yurtdışından sağlanan M.avium serotip 1 ve M.avium serotip 2 standart antiserumları ile tüp ve lam aglutinasyon testleri yapıldı.
- b- İzole ettiğimiz M.avium Y-1 suşu ile hazırlanan antijen tavşanlara verilerek hiperimmün serum elde edildi. Yurtdışından sağlanan standart antijenlerle (M.avium serotip 1, M.avium serotip 2, M.avium serotip 3 ve M.avium serotip Darden) tüp ve lam aglutinasyon testleri yapıldı.

Tiplendirme için kullanılan gereç ve yöntemler aşağıda belirtilmiştir.

- **Standart serumlar:** M.avium serotip 1 ve M.avium serotip 2 standart serumları Prof.Dr.Helga Gerlach. Institut Für Geflügelkrankheiten. Ludwig-Maximilians-Universität München'den sağlandı.

- *Standart antijenler:* M.avium serotip 1, M.avium serotip 2, M.avium serotip 3 ve M.avium serotip Darden suşları da Prof.Dr.Helga Gerlach. Institut Für Geflügelkrankheiten-Ludwig-Maximilians-Universität München'den sağlandı.

- *Antijen hazırlanması:* İmmunizasyon ve aglutinasyon antijeni Saxegaard'ın bildirdiği yöntem modifiye edilerek hazırlandı(71).

Lowenstein-Jensen besiyerinde üremiş olan kolonilerin steril fizyolojik tuzlu suda bir süspansiyonu hazırlandı. Bu süspansiyondan önce kanlı agar besiyerine ekim yapılarak kültürün saflığı kontrol edildi. Kontrol sonucu saf olduğu belirlenen süspansiyondan, doku kültürü şişelerinde 100'er ml miktarında yatık agar şeklinde hazırlanan Middlebrook 7H10 agara, birer ml miktarında ekimler yapıldı ve şişeler 37°C'de 5 hafta süreyle inkubasyona bırakıldı. Middlebrook 7H10 agarda üreyen kolonilerin üzerine % 0.5 fenol içeren steril pH:7 fosfat tampon eriyiği konuldu. Koloniler bu solusyonla çalkalandıktan sonra öze ile besiyeri yüzeyinden kaldırılarak toplandı ve steril bir erlenmayer içinde biriktirildi. Süspansiyon, bakterilerin ölmesi için 5 gün oda ısısında bırakıldı. Sonra steril fosfat tampon eriyiği (PBS) ile 3 kez yıkanarak yoğunluğu McFarland No.4'e göre ayarlandı.

Antijen yoğunluğunun McFarland No.4'e göre ayarlanması Bilgehan'ın yöntemine göre hazırlandı(15).

Ayıracılar:

% 1'lik H ₂ SO ₄ eriyiği.....	9.6 ml
% 1'lik BaCl ₂ eriyiği.....	0.4 ml

9.6 ml % 1'lik H₂SO₄ eriyiği, 0.4 ml % 1'lik BaCl₂ eriyiği ile temiz bir tüpte karıştırıldı. Aynı boyutlardaki temiz bir tüpe, hazırlanan antijenden bir miktar konularak McFarland No.4'ün bulanıklığına ulaşıncaya kadar steril fizyolojik tuzlu su (FTS) ile sulandırıldı.

Bu şekilde hazırlanan antijen 5'er ml'lik steril şişelere bölünerek kullanılıncaya kadar derin dondurucuda saklandı.

- Hiperimmun serum eldesi için tavşanların immunizasyonu:

Tavşanların immunizasyonu için Schaefer tarafından bildirilen yöntem uygulandı(72).

Bu amaçla iki adet Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı. Antiserum elde etmek için, hazırlanan antijen tavşanların injeksiyonundan önce 30 dakika süreyle 80°C'lik su banyosunda tutuldu. Sonra da tavşanlara 4 hafta süreyle haftada iki kez, intravenöz olarak birinci injeksiyonlarda 1 ml, ikinci injeksiyonlarda 2 ml olmak üzere toplam 8 injeksiyon yapıldı. Son injeksiyondan 6 gün sonra hayvanlar kesilerek kanları alındı ve serumları ayrılarak kullanılıncaya kadar derin dondurucuda saklandı.

Aglutinasyon Testleri:

Yavaş tüp ve çabuk lam aglutinasyon testleri Akay'ın bildirdiği yöntemle göre uygulandı(1).

a- Yurtdışından sağlanan standart antiserumlarla (M.avium serotip 1 ve 2)

a₁- Yavaş tüp aglutinasyon testi:

Test için 11 adet aglutinasyon tüpü kullanıldı. M.avium serotip 1 ve M.avium serotip 2 standart serumları ayrı ayrı steril FTS ile 1/2'den 1/1024'e kadar çift katlı sulandırıldı. 11. tüp kontrol olarak kullanıldı. Önce bütün tüplere 0.5'er ml miktarında FTS konuldu. Sonra birinci tüpe 0.5 ml standart serum konulup karıştırılarak 0.5 ml diğer tüpe aktarıldı. Bu işlem 11. tüpe kadar devam etti. Sonra da her serum dilusyonu üzerine ve kontrol tüpüne hazırladığımız antijenden 0.5'er ml konularak tüpler 37°C'de 24 saat bekletildi. 3. ve 24. saatlerde aglutinasyon yönünden kontrol yapıldı.

a₂- Çabuk lam aglutinasyon testi:

Bir damla M.avium Y-1 suşuyla hazırlanan antijen, birer damla standart M.avium serotip 1 ve serotip 2 antiserumlarıyla ayrı ayrı temiz lamlar üzerinde karıştırılarak bir dakika içinde aglutinasyon oluşup oluşmamasına göre reaksiyonlar değerlendirildi.

b- Yurtdışından sağlanan standart antijenlerle (M.avium serotip 1, serotip 2, serotip 3 ve serotip Darden):

b₁- Yavaş tüp aglutinasyon testi:

Standart antijenlerle aglutinasyon testi için 11'er tüpten oluşan 4 ayrı seri hazırlandı. M.avium Y-1 suşuyla immunize edilen tavşanlardan elde edilen hiperimmün serumun FTS ile yukarıdaki gibi 1/2'den 1/1024'e kadar çift katlı sulandırmaları yapıldı. Her seriye ait serum dilusyonları üzerine ve kontrol tüpüne 0,5'er ml miktarlarında M.avium serotip 1, serotip 2, serotip 3 ve serotip Darden antijenleri konularak tüpler 37°C'de 24 saat bekletildi. 3. ve 24. saatlerde aglutinasyon yönünden kontrol yapıldı.

b₂- Çabuk lam aglutinasyon testi:

Tavşanlardan elde edilen hiperimmün serumun bir damlası standart antijenlerin birer damlasıyla ayrı ayrı temiz lamlar üzerinde karıştırılarak bir dakika içinde aglutinasyon oluşup oluşmamasına göre reaksiyonlar değerlendirildi.

Tavuklarda Deneysel İnfeksiyon

Denemelerde toplam 39 adet tavuk kullanıldı. Bunların 34 adedi M.avium Y-1 suşu ile deneysel olarak infekte edildi, 5 adedi ise kontrol grubu olarak ayrıldı ve tamamen ayrı bir bölümde bakım ve beslenmeye alındı.

Tavuklar deneysel olarak infekte edilmeden önce herbirinin kanlarıyla çabuk lam aglutinasyon testi yapılarak ve ayrıca herbirine tüberkülin uygulanarak tüberküloz açısından sağlıklı oldukları saptandı.

Deneme infeksiyonunun oluşturulacağı tavuklar 4 gruba ayrıldı. I. gruptaki 15 adet tavuğa, 0.25 mg M.avium Y-1 suşu 0.5 ml FTS'de süspanse edilerek intravenöz olarak verildi(12). II. gruptaki 15 adet tavuğa, 0.5 mg M.avium Y-1 suşu 0.5 ml FTS'de süspanse edilerek intravenöz olarak verildi(8). III. gruptaki 4 adet tavuk inokulasyon yapılan hayvanlarla aynı ortamda bırakıldı(85). IV. gruptaki 5 adet tavuk kontrol grubu olarak ayrıldı (Tablo 1).

Tablo 1 : M.avium Y-1 suşuyla tavukların deneysel infeksiyonu

<i>Grup</i>	<i>Tavuk Sayısı</i>	<i>İnokulum</i>	<i>İnokulasyon Dozu</i>	<i>İnokulasyon Yolu</i>
I	15	M.avium Y-1	0.25 mg/0.5 ml	İ.V
II	15	M.avium Y-1	0.5 mg/0.5 ml	İ.V
III	4	-	-	İnokulasyon yapılan tavuklarla aynı ortamda bırakıldı
IV (Kontrol)	5	-	-	-

Tavuklar deneysel olarak infekte edildikten 3 hafta sonra tüberkülin testi uygulandı. Aynı zamanda kanları alınarak serumları ayrıldı ve serolojik çalışmalarda kullanılıncaya kadar derin dondurucuda saklandı.

Tüberkülin Testi:

Bütün tavukların sol ibiğine intradermal olarak 0.1 ml miktarlarında avian PPD tüberkülin injekte edildi. 24, 48 ve 72. saatlerde kontrolleri yapılarak sonuçlar değerlendirildi (Resim 1).



Resim 1

Serolojik Testler:

Tiplendirme çalışmaları için M.avium Y-1 suşuyla hazırlanan antijen kullanılarak, çabuk lam aglutinasyon testi, yavaş tüp aglutinasyon testi ve ELISA yöntemi ile ön çalışma yapıldı ve olumlu sonuçlar alındı. Bu nedenle hazırlanan antijen tüm serolojik çalışmalarda kullanıldı.

DeneySEL olarak infekte edilen tavukların vena cutanea ulnarisinden deneme infeksiyonu sonrası 3. haftada alınan kanların serumları ile 3 çeşit serolojik uygulama yapıldı.

1- Çabuk lam aglutinasyon testi (serumla):

Çabuk lam aglutinasyon testi Akay'ın bildirdiği yöneme göre uygulandı(1).

Temiz bir lam üzerine McFarland No.4'e göre ayarlanmış antijen-den bir damla konularak üzerine bir damla serum ilave edildi ve 60 saniye içinde aglutinasyon oluşup oluşmamasına göre reaksiyonlar değerlendirildi.

2- Yavaş tp aglutinasyon testi:

Yavaş tp aglutinasyon testi Schaefer'in açıkladığı yönteme göre yapıldı(72).

Test için 11 adet aglutinasyon tüpü kullanıldı. Deneysel olarak infekte edilen tavukların serumları FTS ile 1/5'den 1/2560'a kadar çift katlı sulandırıldı. nce birinci tüpe 0.8 ml diğer tüplere 0.5'er ml FTS konuldu. Sonra birinci tüpe 0.2 ml serum konulup karıştırılarak 0.5'er ml miktarlarında diğer tüplere aktarıldı. Bu işlem 11. tüpe kadar devam etti. 11. tp kontrol olarak kullanıldı. Sonrada bütün tüplere 0.5'er ml McFarland No.4'e göre ayarlanmış antijenden konuldu. Tüpler 24 saat süreyle 37°C'de bekletildi. 3. ve 24. saatlerde aglutinasyon yönünden kontrolleri yapıldı.

3- Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA):

ELISA, Thoen ve ark. tarafından bildirilen yöntemin modifikasyonu yapılarak uygulandı(85).

Gereçler:

ELISA antijeni: M.avium Y-1 suşundan hazırlanan McFarland No.4'e göre ayarlanmış antijen kullanıldı.

Serumlar: M.avium Y-1 suşuyla deneysel olarak infekte edilen tavuklardan elde edilen serum örnekleri kullanıldı.

Serumlar, % 0.5 Tween-80 içeren 0.5 M NaCl solüsyonu ile 1/10, 1/20, 1/40, 1/80, 1/160 ve 1/1000 oranlarında sulandırılarak kullanıldı.

Konjugat: Almanya'daki SIGMA firmasından sağlanan Rabbit-anti chicken IgG (whole molecule). Alkaline Phosphatase Conjugate (A-9171) kullanıldı.

Konjugat, % 0.5 Tween-80 içeren 0.5 M NaCl'de 1/200'lk bir sulandırması hazırlanarak kullanıldı.

Substrat: SIGMA firmasından sağlanan p-Nitrophenyl Phosphatase (pNPP, N-2765) substrat kullanıldı.

1 mg substrat 1 ml kaplama sıvısında (coating buffer) sulandırılarak kullanıldı.

Mikroplate: 96 ukurlu U-tabanlı Nunc-immunomikroplateler kullanıldı.

Mikropipet: 20-100 mikrolitrelik otomatik mikropipet kullanıldı.

Pozitif ve Negatif Serumlar: Pozitif serum olarak Münih Ludwig - Maximilians niversitesinden sağlanan M.avium serotip 2 antiserumu, negatif serum olarak ayrı bir ortamda beslenen, çabuk lam aglutinasyonu, yavaş tp aglutinasyonu ve tüberkülin testlerinde negatif sonuç veren kontrol grubuna ait 5 adet tavuğun serumları kullanıldı.

Pozitif ve negatif serumlar 1/10, 1/20, 1/40, 1/80, 1/160 ve 1/1000 oranlarında sulandırılarak kullanıldı.

Sulandırma ve Yıkama zeltileri

a- Konjugat sulandırması, serum sulandırmaları ve yıkama işlemleri için; 1 M K_2HPO_4 ile pH'sı 7.5'a ayarlanmış % 0.5 Tween-80 içeren 0.5 M NaCl zeltisi kullanıldı.

zeltinin hazırlanması:

- 1 M K_2HPO_4 zeltisi: 1 litre saf suya 174.18 g K_2HPO_4 karıştırıldı. Tween-80'in pH'sı bu zelti ile 7.5'a ayarlandı.
- 0.5 M NaCl zeltisi: 1 litre saf suya 29.22 g NaCl karıştırıldı.
- % 0.5 Tween-80'li 0.5 M NaCl zeltisi: 1 litre 0.5 M NaCl solusyonuna 5 ml Tween-80 karıştırıldı.

b- Substrat sulandırması için, kaplama sıvısı (coating buffer) hazırlanarak kullanıldı.

Çözeltinin hazırlanması

- STOK A-Sodyum karbonat solusyonu:
Na₂CO₃..... 21.2 g
Saf Su 1000 ml
- STOK B-Sodyum hidrojen karbonat solusyonu:
NaHCO₃..... 16.8 g
Saf Su 1000 ml

16 ml stok A solüsyonu, 34 ml stok B solusyonu ile karıştırılarak (pH:9.6) kaplama sıvısı elde edildi. 1 mg substrat 1 ml kaplama sıvısında sulandırıldı.

Yöntem:

U-tabanlı mikroplate'in bütün çukurlarına 0.05 ml (50 µl) anti-jen konuldu ve mikroplate 22° C'de 16 saat süreyle kurumaya bırakıldı.

Mikroplate, % 0.5 Tween-80 içeren 0.5 M NaCl solusyonu ile 8 kez yıkandı.

Her çukura 1/10, 1/20, 1/40, 1/80, 1/160 ve 1/1000'lik serum dilusyonlarından 0.05 ml (50µl) ilave edildi. Serumlar horizontal karıştırıcıda 22° C'de 8 dakika inkube edildi.

Mikroplate % 0.5 Tween-80 içeren 0.5 M NaCl çözeltisiyle 8 kez yıkandı.

Her çukura konjugatın 1/200'lük dilusyonundan 0.05 ml (50 µl) ilave edildi. Mikroplate 22°C'de 5 dakika inkube edildi.

Çukurlar yeniden % 0.5 Tween-80 içeren 0.5 M NaCl çözeltisiyle 4 kez yıkandı.

Her çukura 0.05 ml (50 μ l) substrat solusyonu ilave edildi. Mikroplate 22°C'de 10 dakika inkube edildi.

Sonuçta her çukurun absorbansı 450 nm'de Titertek Multiskan MCC/340 reader'ında değerlendirildi. Sonuçların pozitif ve negatif olarak değerlendirilmesi "negatiflik eşiği" saptanarak yapıldı.

Negatiflik eşiği Optik Dansite (OD)'nin saptanması:

Negatiflik eşiği OD, kontrol grubundaki 5 adet tavuğa ait 1/10, 1/20, 1/40, 1/80, 1/160 ve 1/1000 oranlarında sulandırılan serum örneklerinin verdiği en yüksek titre olarak alındı.

B U L G U L A R

100 adetlik ekstansif tipte tavukçuluk yapılan bir çiftlikten Ana-bilim Dalımıza getirilen 10 ölü havyana yapılan otopsiler sonunda 1,2,5,6 ve 8 no'lu tavukların karın boşluklarının kanla dolduğu, karaciğerlerinin aşırı derecede büyüdüğü ve kolaylıkla parçalandığı, dalakların düzensiz bir yumru şeklinde olduğu, karaciğer ve dalakların üzerinde küçük sarı renkli nodüllerin varlığı dikkati çekti. Bu hayvanların akciğerlerinin de büyüdüğü özellikle 1 ve 2 no'lu tavukların akciğerlerinin üzerinde çok belirgin nodüllerin olduğu, 1,5 ve 6 no'lu tavukların barsaklarında granulomların olduğu gözlemlendi (Resim 2). Nodüllerin iki lam arasında kolayca ezildiği, nodüllere kesit yapıldığında içlerinin beyaz renkte peynirleşmiş bir kitle ile dolu olduğu gözlemlendi. 1,4 ve 8 no'lu tavukların böbreklerinin büyüdüğü, diğer tavuklarda (3,7,9 ve 10 no'lu) ise lezyonların belirgin olmadığı yalnızca organlarda büyüme olduğu görüldü (Tablo 2).

Tablo 2 : Tüberküloz şüpheli tavuklarda lezyonların organlara göre dağılımı ve oranları (%)

	Tavuk No										Lezyonların Dağılım Oranları (%)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Karaciğer	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	100
Dalak	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	80
Barsak	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	30
Akciğer	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	50
Böbrek	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	30

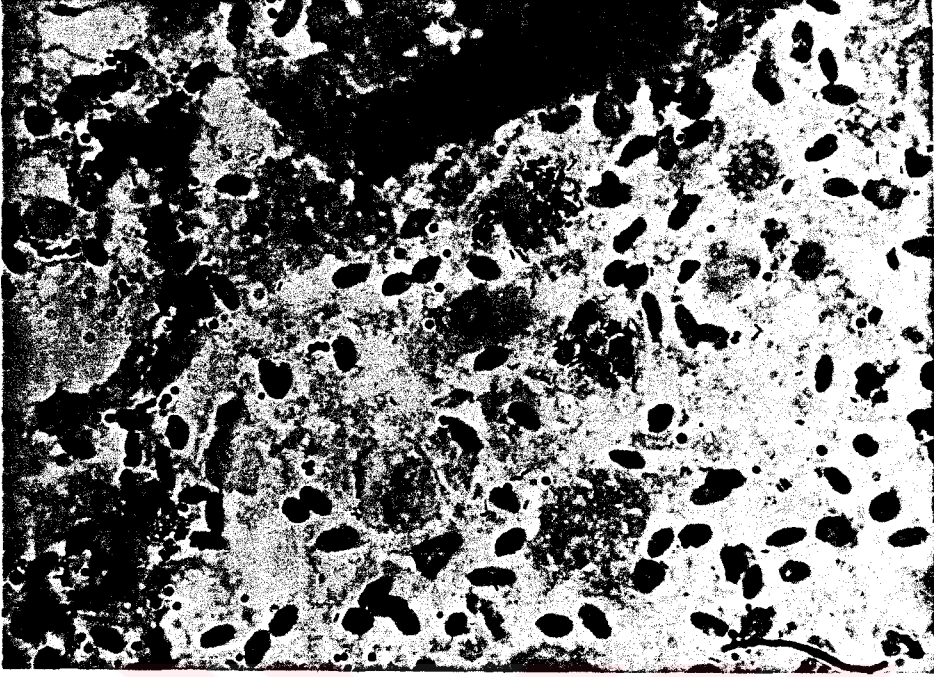


Resim 2

İzolasyon ve İdentifikasyon Çalışmaları Sonuçları:

10 ölü tavuğun otopsileri sonucu lezyonların özellikle yoğun olduğu karaciğer ve dalak örneklerinden ayrı ayrı hazırlanan inokulumların kontaminasyonu yönünden kanlı agara yapılan ekimler sonucu hiçbir üreme olmadı.

1- Bakterioskopi: 10 adet ölü tavuğun lezyonlu organlarından ayrı ayrı hazırlanan sürme preparatlar Ziehl-Neelsen yöntemiyle boyandıktan sonra mikroskopta küçük, tek tek veya kümeler halinde kırmızı renkli bakteriler görüldü (Resim 3).



Resim 3

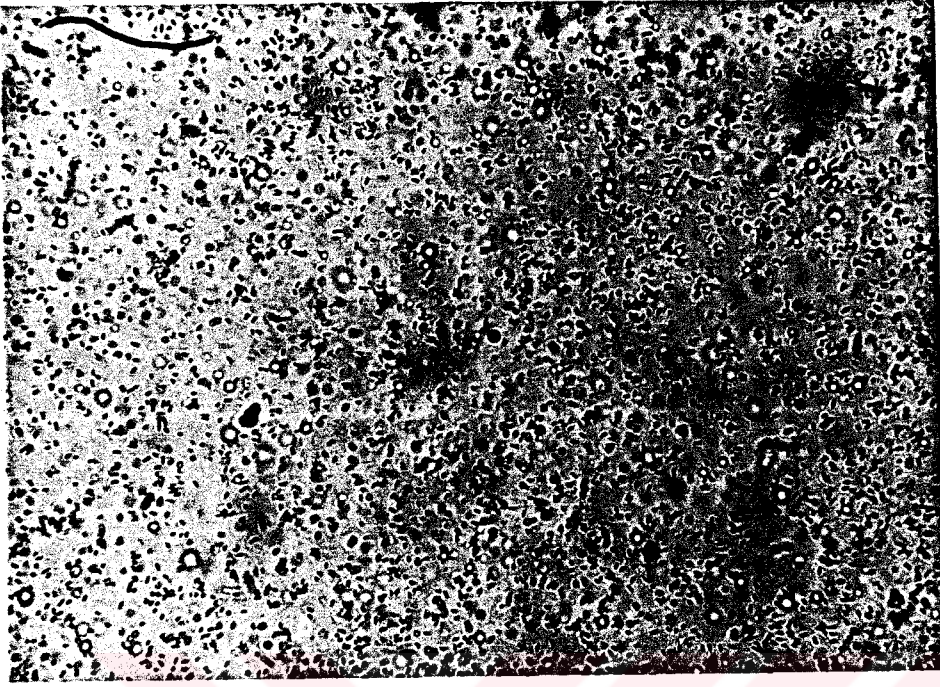
2- Kültür: 10 adet tavuğun lezyonlu organlarından Lowenstein - Jensen besiyerine yapılan ekimler sonucunda 2 suş (Y-1 ve Y-2) izole edildi. Kolonilerin, 37°C'de inkubasyondan 1-2 hafta sonra oluşmaya başladığı ve 5-8 haftada tamamen belirginleştiği görüldü. 42°C'de hiç üreme olmadı. Kolonilerin besiyeri yüzeyine yayıldıkları, yer yer kabarık, mukoid karakterde ve sarımsı-beyaz renkte oldukları gözlemlendi. Bu kolonilerin buzdolabında 15-20 gün bekletildikten sonra R (rough) tipine dönüştükleri saptandı (Resim 4).



Resim 4

Subkültürlerde kolonilerin 4-5 günde oluşmaya başladığı ve iki haftada belirginleştiği saptandı. Subkültürlerde üremelerin çok bol olduğu, kolonilerin besiyeri yüzeyine tamamen yayıldıkları ve sarı renkte oldukları gözlemlendi. 42°C'lerde yine üreme olmadığı saptandı. Ağzı parafinle kapatılan tüplerde üremenin olmadığı ya da çok az olduğu, ağzı parafilmle kapatılmış olan tüplerde ise üremenin bol olduğu görüldü.

Besiyeri yüzeyinden steril koşullarda temiz lam üzerine öze yardımıyla alınan koloniler Ziehl-Neelsen yöntemiyle boyandıklarında tipik aside dayanıklı mycobacteriler görüldü (Resim 5).



Resim 5

İzole edilen her 2 suşun (Y-1 ve Y-2), FTS'de homojen süspanسیونlar oluşturdukları ancak Y-1 suşunun Y-2 suşuna oranla daha kolay süspanسیون olduğu saptandı. Deneysel çalışmamızda yalnızca bir suş kullanacağımız için Y-1 suşunun daha kolay süspanسیون olması ve subkültürlerde daha bol üremesi nedeniyle Y-1 suşunun kullanılmasını uygun gördük. Y-2 suşu serotiplendirme çalışmalarında kullanılmadı, yalnızca patojenite denemesi amacıyla kullanıldı.

Kültürlerin saflığı yönünden yapılan Gram boyamada kümeler halinde, birbirine paralel, küçük Gram (+) basiller görüldü.

3- Biyokimyasal Testler:

Y₁ ve Y₂ suşlarının biyokimyasal aktivitelerini saptamak amacıyla yapılan testler sonucunda, her 2 suşun da; oda ısısında ve 68°C'de ısıtılmış bakterilerle yapılan katalaz deneyi ve tellürit redüksiyonu deneylerinde pozitif sonuç verdikleri, niasin deneyi, Tween-80 hidrolizi, nitrat redüksiyonu, üreaz deneyi, MacConkey agarda ve % 5 NaCl'lü ortamda üreme deneylerinde negatif sonuç verdikleri saptandı (Tablo 3).

Tablo 3 : İzole edilen şuşların biyokimyasal özellikleri

	BİYOKİMYASAL TESTLER									
	Oda ısısında Katalaz	68°C Katalaz	Tween-80 Hidrolizi	Tellürit Redüksiyonu	Niasin	Üreaz	Nitrat Redüksiyonu	MacConkey Agarda Üreme	% 5 NaCl'de Üreme	
Y-1	+	+	-	+	-	-	-	-	-	
Y-2	+	+	-	+	-	-	-	-	-	

4- Patojenite Denemeleri

İzole edilen şuşların (Y-1 ve Y-2) patojenitelerini saptamak amacıyla iki adet tavuk ve iki adet tavşana yapılan inokulasyonlar sonucunda tavukların ibiklerinin sarardığı, özellikle göğüs kaslarının çok zayıfladığı ve zaman zaman ishal oluştuğu saptandı. Tavşanlarda iştahsızlık, su içme ve durgunluk gözlemlendi.

M.avium Y-1 şuşuyla inokule edilen tavuk 37. günde, tavşan 100. günde, M.avium Y-2 şuşuyla inokule edilen tavuk 210. günde, tavşan 165. günde öldü.

37. günde ölen tavuğun karaciğer, dalak ve akciğerlerinde nodüllerin oluştuğu, karaciğerlerin 4-5 katı büyüdüğü, 210. günde ölen tavuğun karaciğerlerinde, dalağında ve akciğerlerin kostalara bakan yüzünde özellikle de interkostal aralıklarda çok sayıda nodüllerin oluştuğu görüldü.

Tavşanların karaciğer, akciğer, dalak ve kalplerinin büyüdüğü ve barsaklarda yapışma olduğu gözlemlendi. Tavşanlarda organların büyümesi dışında lezyon görülmedi.

Tavukların lezyonlu organlarından (karaciğer, dalak, akciğer), tavşanların büyüyen organlarından (karaciğer, dalak) hazırlanan sürme preparatların Ziehl-Neelsen yöntemiyle boyanmasından sonra mikroskopta bol miktarda tipik tüberküloz basilleri görüldü.

5- Serolojik ve Allerjik Testler:

Tiplendirme Çalışmaları:

a₁- Standart antiserumlarla yavaş tüp aglutinasyon testi sonuçları:

Yurtdışından sağlanan standart *M.avium* serotip 1 ve serotip 2 antiserumları ile yapılan tüp aglutinasyon testi sonuçları 3. ve 24. saatlerde değerlendirildi. 3. saatte yapılan değerlendirmede aglutinasyon görülmedi. 24. saatte yapılan değerlendirmede *M.avium* Y-1 suşunun *M.avium* serotip 1 antiserumu ile en yüksek titreyi 1/256'da, *M.avium* serotip 2 antiserumu ile en yüksek titreyi 1/1024'te verdiği saptandı (Tablo 4 ve 5)

Tablo 4 : *M.avium* Y-1 suşundan hazırlanan antijenle standart *M.avium* serotip 1 antiserumunun tüp aglutinasyon testi sonucu

	Antiserum (<i>M.avium</i> ser.1) Sulandırma Oranları										
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	K
<i>M.avium</i> Y-1 antijeni	4+	4+	4+	4+	2+	2+	2+	2+	-	-	-

Tablo 5 : *M.avium* Y-1 suşundan hazırlanan antijenle standart *M.avium* serotip 2 antiserumunun tüp aglutinasyon testi sonucu

	Antiserum (<i>M.avium</i> ser.2) Sulandırma Oranları										
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	K
<i>M.avium</i> Y-1 antijeni	4+	4+	4+	4+	4+	4+	3+	3+	3+	2+	-

a₂- Standart antiserumlarla lam aglutinasyon testi sonuçları:

Lam aglutinasyon testi sonucunda, *M.avium* Y-1 suşundan hazırlanan antijenin, *M.avium* serotip 1 ve *M.avium* serotip 2 standart antiserumlarının her ikisiyle de aglutinasyon verdiği görüldü (Tablo 6).

Tablo 6 : *M.avium Y-1 suşundan hazırlanan antijenle standart M.avium ser.1 ve ser.2 antiserumlarının lam aglutinasyon testi sonuçları*

	Standart serumlar	
	M.avium serotip 1	M.avium serotip 2
M.avium Y-1 antijeni	+	+

b₁- Standart antijenlerle yapılan tüp aglutinasyon testi sonuçları:

Tavşanlarda M.avium Y-1 suşuyla hazırlanan hiperimmün serumla yurtdışından sağlanan standart antijenler kullanılarak yapılan tüp aglutinasyon testi sonuçları 3. ve 24. saatlerde değerlendirildi. 3. saatte yapılan değerlendirmede aglutinasyon görülmedi. 24. saatte yapılan değerlendirmede, tavşanlardan elde ettiğimiz M.avium Y-1 suşuna ait hiperimmün serumun M.avium serotip 1 antijeniyle 1/512, M.avium serotip 2 antijeniyle 1/512, M.avium serotip 3 antijeniyle 1/32, M.avium serotip Darden antijeniyle 1/256'da en yüksek titreleri verdiği saptandı (Tablo 7).

Tablo 7 : *Tavşanlardan elde edilen hiperimmün serumla standart M.avium antijenlerinin tüp aglutinasyon testi sonuçları*

	Hiperimmün Serum Sulandırmaları										
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	K
M.avium serotip 1	4+	4+	4+	4+	4+	4+	3+	3+	2+	-	-
M.avium serotip 2	4+	4+	4+	3+	3+	2+	2+	2+	2+	-	-
M.avium serotip 3	3+	2+	2+	2+	2+	-	-	-	-	-	-
M.avium serotip Darden	4+	4+	4+	4+	3+	3+	3+	2+	-	-	-

b₂- Standart antijenlerle lam aglutinasyon testi sonuçları:

Lam aglutinasyon testi sonunda tavşanlardan elde edilen hiperimmün serumun, M.avium serotip 3 dışında diğer standart antijenlerin hepsiyle aglutinasyon verdiği görüldü (Tablo 8).

Tablo 8 : Tavşanlardan elde edilen hiperimmün serumla standart *M.avium* antijenlerinin lam aglutinasyon testi sonuçları

	<i>Standart Antijenler</i>			
	<i>M.avium ser.1</i>	<i>M.avium ser.2</i>	<i>M.avium ser.3</i>	<i>M.avium ser.Darden</i>
Hiperimmün serum	+	+	-	+

İzole ettiğimiz *M.avium* Y-1 suşunun tiplendirilmesi için kullanılan standart *M.avium* serotip 1 ve serotip 2 antiserumlarıyla yaptığımız yavaş tüp ve çabuk lam aglutinasyon testlerinde *M.avium* Y-1 suşunun her 2 antiserumla da Tablo 4,5,6'da görüldüğü gibi pozitif reaksiyon verdiği saptandı. Aynı şekilde *M.avium* Y-1 suşuna karşı tavşanlardan elde edilen hiperimmün serumla standart *M.avium* antijenlerini kullanarak yaptığımız yavaş tüp ve çabuk lam aglutinasyon testlerinde, hiperimmün serumun yavaş tüp aglutinasyon testinde Tablo 7'de görüldüğü gibi standart *M.avium* ser.1, ser.2, ser.3 ve ser.Darden antijenlerinin hepsiyle pozitif reaksiyon verdiği, çabuk lam aglutinasyon testinde ise Tablo 8'de görüldüğü gibi yalnızca *M.avium* serotip 3 antijeniyle aglutinasyon vermediği, diğer 3 antijenle pozitif reaksiyon verdiği saptandı.

Testlerin sonuçlarına göre karşılaşmış olduğumuz çapraz reaksiyonlar nedeniyle izole ettiğimiz *M.avium* Y-1 suşu tarafımızdan tiplendirilemedi.

M.avium Y-1 suşunun tiplendirilmesi amacıyla Prof.Dr.Helga Gerlach. Institut Für Geflügelkrankheiten. Ludwig-Maximilians-Universität-Munchen'e gönderdiğimiz kültürlerden yapılan tiplendirme çalışmalarında etkenin *M.avium* serotip 2 olduğu bildirildi.

Tavuklarda Deneysel İnfeksiyon Sonuçları

Üç ayrı grup halinde deneme infeksiyonu oluşturulan tavukların ölümleri 22. günden başlayarak 111. güne kadar devam etti.

Birinci gruptaki, 0.25 mg/0.5 ml inokulasyon yapılan tavukların 23-70. günler arasında; II. gruptaki 0.5 mg/0.5 ml inokulasyon yapılan tavukların 22-40. günler arasında, III. gruptaki doğal infeksiyon oluşturulan tavukların 96-111. günler arasında öldükleri saptandı.

İnfeksiyon oluşturulan tavuklarda klinik olarak yapılan gözlemler sonucunda hayvanlarda belirgin bir zayıflama dikkati çekti. 34 deneme hayvanının 22'sinde (% 56.41) göğüs kemiğinin S şeklinde kavislendiği, bu hayvanların göğüs kaslarının diğerlerine oranla aşırı derecede incelendiği görüldü. Tüm hayvanlarda tüylerin kabardığı, ibiklerin ve gaga çevresinin morardığı, açık yeşil renkli ishal olduğu ve yumurta veriminin gittikçe azaldığı gözlemlendi. İnfeksiyon süresi uzun olan tavuklarda tek taraflı topallık olduğu ve bu hayvanların hareketsiz kaldıkları dikkati çekti (Resim 6,7).



Resim 6



Resim 7

Ölen tavuklara otopsi yapılarak makroskobik bulgular değerlendirildi. Hemen hemen tüm tavuklarda karaciğer ve dalak başta olmak üzere böbrekler ve yumurtalıkların infeksiyondan etkilendiği gözlemlendi.

Birinci gruptaki tavukların otopsilerinde, 23-33. günler arasında ölenlerin karaciğer ve dalaklarında tüberküloz nodüllerinin henüz oluşmadığı ya da tek tük nodüllerin oluştuğu, 33-70. günler arasında ölenlerin karaciğer ve dalaklarında küçük sarımsı-beyaz renkte tüberküloz nodüllerinin oluştuğu görüldü (Resim 8).



Resim 8

İkinci gruptaki tavukların otopsilerinde, 22-24. günler arasında ölen 4 adet tavuğun karaciğer ve dalaklarında lezyon oluşmadığı yalnızca organlarda büyüme olduğu, 24-40. günler arasında ölen 11 adet tavuğun hemen hemen tümünün karaciğer ve dalaklarında bol miktarda tüberküloz nodüllerinin olduğu ve bu nodüllere kesit yapıldığında içlerinin peynirleşmiş bir kitle ile dolu olduğu görüldü (Resim 9).

Birinci ve ikinci grup deneme tavuklarının böbreklerinde büyüme dışında herhangi bir lezyona rastlanmadı. Yumurtalıkların genelde atrofiye olduğu görüldü. Akciğerler ve barsaklarda herhangi bir lezyon görülmedi. Yalnızca bir tavukta (47 no'lu) mezenterial nodüller saptandı (Resim 10).

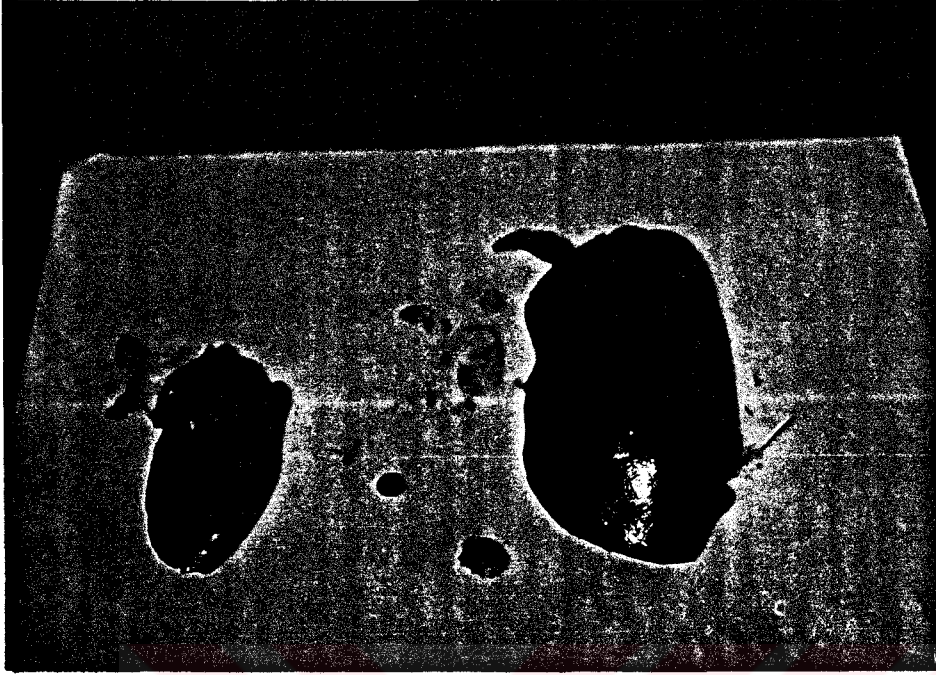
Üçüncü gruptaki doğal infeksiyon oluşturan 4 adet tavuğun otopsilerinde yalnızca karaciğer ve dalaklarının 2-3 katı büyüdüğü ve lezyon oluşmadığı, diğer organlarının normal olduğu gözlemlendi (Resim 11, 12, 13, 14).



Resim 9



Resim 10



Resim 11



Resim 12



Resim 13



Resim 14

Deneysel infeksiyon oluşturulan 34 adet tavuğun otopsi bulgularına göre lezyonların % 88.23 oranında karaciğerlere, % 88.23 oranında dalağa, % 67.64 oranında yumurtalıklara, % 58.82 oranında böbereklere ve % 2.94 oranında mezenteriumlara yerleştiğini saptadık.

Tüm hayvanların lezyonlu organlarından sürme preparatlar hazırlanarak Ziehl-Neelsen boyama yöntemiyle boyandıklarında bol miktarda tipik aside dayanıklı basiller görüldü.

Deneme infeksiyonu sonucu ölen I., II. ve III. grup tavukların otopsi bulguları Tablo 9,10 ve 11'de gösterilmiştir.

Tüberkülin Testi Sonuçları

Deneme infeksiyonundan 3 hafta sonra tavukların ibiklerine uygulanan avian PPD tüberkülin injeksiyonunun 24, 48 ve 72. saatlerde değerlendirmesi yapıldı (Tablo 12).

24. saatte yapılan değerlendirmede hiçbir tavuğun ibiğinde pozitiflik görülmedi. 48. saatte yapılan değerlendirmede 1, 4, 24, 41, 47, 49, 52, 59, 75 ve 76 no'lu tavukların ibiklerindeki reaksiyonun negatif olduğu, diğerlerinde pozitif olduğu saptandı. 72. saatte yapılan değerlendirmede pozitif reaksiyonların daha zayıfladığı görüldü (Resim 15,16,17).

Serolojik Testlerin Sonuçları:

1- Çabuk lam aglutinasyon testi:

Deneysel infeksiyondan 3 hafta sonra tavuklardan elde edilen kan serumlarının McFarland No.4'e göre ayarlanmış M.avium Y-1 antijeniyle lam aglutinasyonu sonucunda, tüm tavuk serumlarının pozitif aglutinasyon reaksiyonu verdiği saptandı.



Resim 15



Resim 16



Resim 17

2- Yavaş tüp aglutinasyon testi:

1/5'den 1/2560'a kadar çift katlı sulandırılan tavukların serumları ile *M.avium* Y-1 antijeni kullanılarak yapılan tüp aglutinasyon testinde 3. saatteki değerlendirmede sonuçların negatif, 24. saatteki değerlendirmede ise sonuçların kuvvetli derecede pozitif olduğu saptandı (Tablo 13,14,15).

Kontrol grubu tavuk serumlarının aynı sulandırmalarda negatif reaksiyon verdikleri görüldü (Tablo 16).

Tablo 9 : 0.25 mg/0.5 ml inokulasyon yapılan I. grup deneme tavuklarının otopsi bulguları

		LEZYONLU ORGANLAR					
Tavuk No	Ölüm Günü	Karaciğer	Dalak	Böbrek	Akciğer	Yumurtalık	Mezenterial Nodül
59	23	Büyük	Büyük	Büyük	Normal	Atrofiye	-
13	24	Büyük	Büyük	Normal	"	Atrofiye	-
21	24	Büyük	Büyük	Normal	"	Kist oluşumu	-
50	25	Büyük	Büyük tek tük nodüller	Büyük	"	Hemorajik	-
74	26	Büyük	Büyük tek tük nodüller	Büyük	"	-	-
25	27	Büyük	Büyük	Büyük	"	Atrofiye	-
36	27	Normal	Büyük	Normal	"	Atrofiye	-
85	29	Normal	Büyük	Normal	"	Atrofiye	-
90	31	Normal	Normal	Normal	"	Atrofiye ve Hemorajik	-
11	33	Büyük ve hafif lezyon	Büyük belirgin nodüller	Büyük	"	Atrofiye	-
60	34	Büyük ve hafif lezyon	Büyük hafif lezyon	Büyük	"	Atrofiye	-
10	34	Normal	Normal	Normal	"	Normal	-
54	59	Büyük ve çok sayıda nodüller	Büyük ve çok sayıda nodüller	Büyük	"	Normal	-
61	70	Büyük ve çok sayıda nodüller	Büyük ve çok sayıda nodüller	Büyük	"	Atrofiye	-
49	70	Büyük ve çok sayıda nodüller	Büyük ve çok sayıda nodüller	Büyük	"	Atrofiye	-

Tablo 10 : 0.5 mg/0.5 ml inokulasyon yapılan II. grup deneme tavuklarının otopsi bulguları

Tavuk No	Ölüm Günü	LEZYONLU ORGANLAR					
		Karaciğer	Dalak	Böbrek	Akciğer	Yumurtalık	Mezenterial Nodül
42	22	Büyük	Normal	Normal	Normal	Normal	-
41	23	Büyük	Normal	Büyük	"	Atrofiye	-
24	23	Büyük tek tük nodüller	Büyük	Büyük	"	Atrofiye ve Hemorajik	-
62	24	Büyük	Büyük	Normal	"	Atrofiye ve Hemorajik	-
35	26	Büyük ve çok sayıda nodüller	Büyük hafif lezyon	Büyük	"	Normal	-
88	26	Büyük	Büyük, hafif lezyon	Normal	"	Hemorajik	-
8	27	Büyük ve tek tük nodüller	Büyük	Normal	"	Hemorajik	-
37	28	Büyük çok sayıda nodüller	Büyük çok sayıda nodüller	Büyük	"	Normal	-
12	30	Büyük hafif lezyon	Büyük tek tük nodüller	Büyük	"	Atrofiye	-
58	30	Büyük, hafif lezyon	Büyük	Büyük	"	Atrofiye	-
47	32	Büyük, hafif lezyon	Büyük, tek tük nodül	Büyük	"	Atrofiye	+
31	32	Büyük çok sayıda nodül	Büyük çok sayıda nodül	Büyük	"	Atrofiye	-
65	36	Büyük çok sayıda nodül	Büyük çok sayıda nodül	Büyük	"	Atrofiye	-
75	38	Büyük	Büyük hafif lezyonlu	Büyük	"	Normal	-
69	40	Büyük	Büyük	Büyük	"	Atrofiye	-

Tablo 11 : Doğal olarak infekte edilen III.grup deneme tavuklarının otopsi bulguları

		LEZYONLU ORGANLAR					
Tavuk No	Ölüm Günü	Karaciğer	Dalak	Böbrek	Akciğer	Yumurta	Mezenterial Nodül
4	96	Büyük	Büyük	Normal	Normal	Normal	–
76	96	"	"	"	"	"	"
52	100	"	"	"	"	"	"
1	111	"	"	"	"	"	"

Tablo 12 : Dememe tavuklarına uygulanan tuberkulin testinin sonuçları (48.saat)

I.Grup		II.Grup		III.Grup	
Tavuk No	Tüberkulin Test Sonucu	Tavuk No	Tüberkulin Test Sonucu	Tavuk No	Tüberkulin Test Sonucu
59	-	42	+	4	-
13	+	41	-	76	-
21	+	24	-	52	-
50	+	62	+	1	-
74	+	35	+		
25	+	88	+		
36	+	8	+		
85	+	37	+		
90	+	12	+		
11	+	58	+		
60	+	47	-		
10	+	31	+		
54	+	65	+		
61	+	75	-		
49	-	69	+		

	Kontrol Grubu Tavuk No				
	14	15	16	17	18
Tüberkulin Testi Sonucu	-	-	-	-	-

Tablo 13 : I. grup deneme tavuklarından elde edilen serumların tüp aglutinasyon testi sonuçları

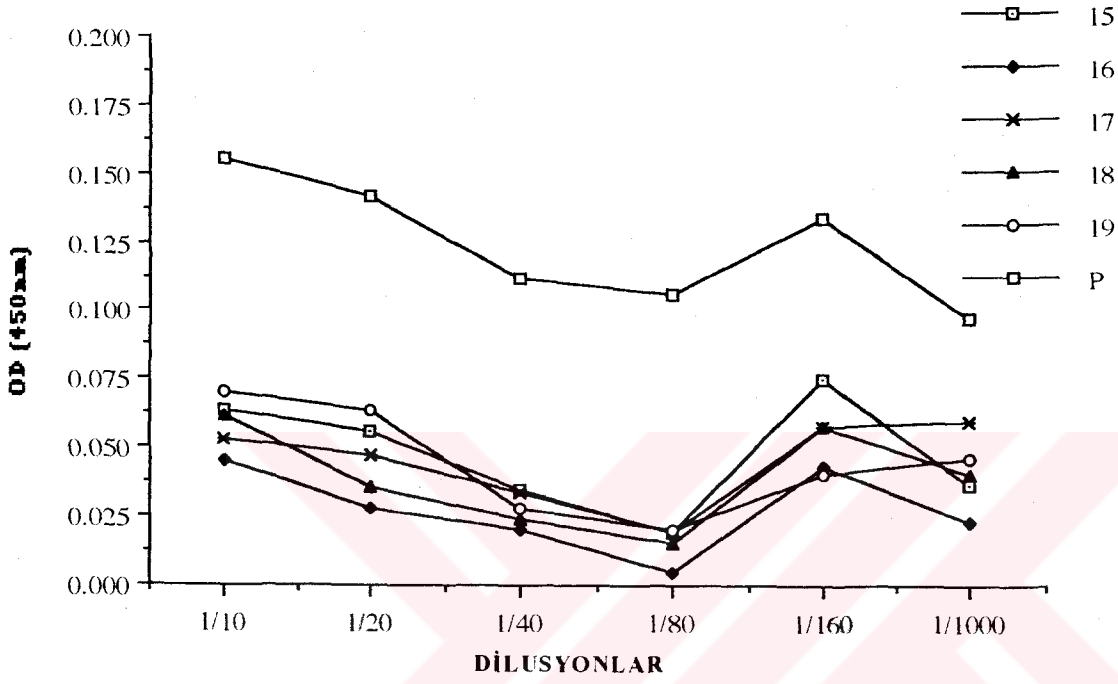
SERUM NO	SERUM SULANDIRMA ORANLARI									
	1/5	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	1/2560
59	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+
13	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+
21	4+	4+	4+	4+	3+	3+	3+	3+	3+	3+
50	4+	4+	4+	4+	3+	3+	3+	3+	3+	3+
74	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	3+	3+	2+
25	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	3+
36	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	3+	2+	1+
85	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+
90	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+
11	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	3+	3+	3+
60	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	3+	3+
10	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+
54	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+
61	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	3+
49	4+	4+	4+	4+	3+	3+	3+	3+	2+	1+

3- Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Sonuçları

Deneme infeksiyonu oluşturan I., II. ve III. grup tavuklardan inokulasyon sonrası 3. haftada ve kontrol grubu (IV. grup) 5 adet tavuktan aynı zamanda alınarak 1/10, 1/20, 1/40, 1/80, 1/160 ve 1/1000 oranlarında sulandırılan kan serumları ile M.avium Y-1 antijeni kullanılarak yapılan ELISA'da deneme infeksiyonu oluşturulan I., II. ve III. gruptaki tavukların serumlarının, kontrol grubu (IV grup) tavukların serumlarında saptanan negatiflik eşiği OD (0.071)'ye göre 1/10, 1/20, 1/40, 1/80 ve 1/160'lık sulandırmalarda pozitif reaksiyon verdiği saptandı. 1/1000'lik sulandırmalarda ise 50, 11, 54, 61, 75, 4 ve 52 no'lu serumların dışındaki tüm serumlarda pozitif reaksiyon saptandı (Tablo 17, 18, 19).

Negatiflik eşiği OD'nin saptanması amacıyla kontrol grubu tavukların serumlarının ELISA'daki sonuçları okunduğunda 0.005'ten 0.075'e kadar değişen sonuçlar gözlemlendi (Tablo 20). Aslında 1/160'lık sulandırmadaki 15 no'lu tavuğa ait 0.075'in en yüksek titreyi vermesi nedeniyle negatiflik eşiği olması gerekiyordu. Ancak hem negatif serumların hem de deneysel infeksiyon oluşturulan tavukların serumlarının Grafik 1'de ve Tablo 17,18,19 ve 20'de görüldüğü gibi 1/160'lık sulandırmalarda orantısız bir değişim göstermesi nedeniyle bu sulandırmaların bizi hatalı bir sonuca götüreceğini gözönüne alarak 1/160'lık dilüsyon dışında en yüksek titreyi veren 19 no'lu tavuğa ait serumun 1/10'luk sulandırmasındaki 0.071, negatiflik eşiği OD olarak kabul edildi ve sonuçlar 0.071 negatiflik eşiği OD'ye göre değerlendirildi.

Yurtdışından sağlanan standart M.avium serotip 2 serumunun ELISA sonuçlarını, deneysel infeksiyon oluşturduğumuz tavuk serumlarının ELISA sonuçlarıyla karşılaştırdığımızda, infekte tavuklara ait tüm sulandırmalardaki serumların pozitif serumun tüm sulandırmalarından daha yüksek titre verdiklerini saptadık (Tablo 21).



Grafik 1. Pozitif ve Negatif Serumların ELISA Değerleri.

15, 16, 17, 18, 19 : Negatif Serumlar

P : Pozitif Serum

Tablo 17 : I. grup tavuklardan elde edilen serumların ELISA Sonuçları

Serum Sulandırma Oranları	Serum No														
	59	13	21	50	74	25	36	85	90	11	60	10	54	61	49
1/10	0.287	0.436	0.516	0.221	0.397	0.512	0.298	0.370	0.257	0.410	0.421	0.483	0.535	0.219	0.407
1/20	0.271	0.430	0.515	0.234	0.220	0.334	0.296	0.315	0.239	0.198	0.404	0.436	0.205	0.183	0.270
1/40	0.241	0.379	0.489	0.162	0.255	0.330	0.200	0.146	0.210	0.129	0.343	0.406	0.143	0.098	0.228
1/80	0.210	0.349	0.463	0.147	0.157	0.287	0.198	0.126	0.200	0.120	0.287	0.390	0.123	0.092	0.178
1/60	0.264	0.322	0.485	0.206	0.270	0.272	0.321	0.160	0.253	0.153	0.302	0.359	0.131	0.089	0.157
1/1000	0.095	0.199	0.162	0.070	0.143	0.124	0.116	0.106	0.161	0.010	0.105	0.221	0.047	0.035	0.090

Tablo 18 : II. grup tavuklardan elde edilen serumların ELISA Sonuçları

Serum Sulandırma Oranları	Serum No														
	42	41	24	62	35	88	8	37	12	58	47	31	65	75	69
1/10	0.224	0.404	0.283	0.266	0.233	0.247	0.508	0.439	0.501	0.273	0.386	0.449	0.288	0.438	0.444
1/20	0.223	0.179	0.253	0.234	0.230	0.242	0.357	0.349	0.495	0.242	0.168	0.389	0.278	0.419	0.362
1/40	0.198	0.168	0.210	0.212	0.171	0.214	0.344	0.322	0.340	0.214	0.133	0.318	0.270	0.371	0.359
1/80	0.196	0.155	0.197	0.207	0.152	0.143	0.295	0.313	0.287	0.165	0.130	0.312	0.237	0.341	0.295
1/160	0.247	0.203	0.270	0.264	0.209	0.263	0.315	0.310	0.287	0.217	0.169	0.326	0.288	0.291	0.231
1/1000	0.124	0.117	0.172	0.108	0.099	0.229	0.089	0.197	0.175	0.073	0.095	0.187	0.204	0.050	0.084

Tablo 19 : III. grup tavuklardan elde edilen serumların ELISA Sonuçları

Serum Sulandırma Oranları	Serum No			
	4	76	52	1
1/10	0.415	0.444	0.348	0.326
1/20	0.297	0.316	0.308	0.264
1/40	0.283	0.261	0.270	0.204
1/80	0.153	0.180	0.220	0.149
1/60	0.197	0.168	0.217	0.147
1/1000	0.051	0.077	0.069	0.107

Tablo 21 : Pozitif serumun ELISA sonucu

Serum Sulandırma Oranları	Pozitif Serum
1/10	0.156
1/20	0.142
1/40	0.112
1/80	0.106
1/160	0.134
1/1000	0.98

Tablo 20 : Kontrol grubu (IV. grup) tavuklardan elde edilen serumların ELISA sonuçları

Serum Sulandırma Oranları	Serum No				
	15	16	17	18	19
1/10	0.064	0.045	0.053	0.062	0.071
1/20	0.056	0.028	0.047	0.036	0.064
1/40	0.035	0.020	0.034	0.024	0.028
1/80	0.019	0.005	0.019	0.015	0.020
1/160	0.075	0.043	0.058	0.058	0.041
1/1000	0.037	0.023	0.060	0.041	0.046

TARTIŞMA VE SONUÇ

Tavuk tüberkülozu tüm dünyada uzun yıllardan beri bilinmekte olup *M.avium* tarafından oluşturulan kronik ve bulaşıcı bir enfeksiyondur. Hastalık başta tavuk ve hindiler olmak üzere ördek, kaz, bıldırcın gibi kanatlılarda da zaman zaman görülmektedir(1,28,37,56,69).

Thoen ve Karlson'un bildirdiğine göre ABD'de avian tüberkülozun insidensi tavuklarda düşük düzeyde olmasına karşın ekzotik kafes kuşlarında önemli bir sorundur(89). Biz de bu konuda 4 yıldır yaptığımız araştırmalarda, tavuk tüberkülozunun özellikle ekstansif tipte tavukçuluk yapılan yerlerde önemli oranda arttığını gözledik.

Araştırmacılar, tüberkülozlu tavukların otopsilerinde lezyonların karaciğer ve dalak başta olmak üzere, barsaklar, mezenteriumlar, kemik iliği, akciğerler gibi organlarda oluştuğunu bildirmişlerdir(1,19,36,62). Akay, 22 tüberkülozlu hindiye yaptığı otopsiler sonucunda lezyonların, hindilerin % 81.8'inde karaciğerlere, % 77.2'sinde dalağa, % 50'sinde akciğerlere, % 22.7'sinde barsaklara, % 4.5'unda bezli mideye, % 4.5'unda kalbe ve % 9.09'unda böbreklere yerleştiğini saptamıştır(1). Mutalib ve Riddell, lezyonların 74 tavuğun 70'inde karaciğerlere, 65'inde dalağa, 52'sinde barsaklara, 41'inde kemik iliğine, 23'ünde akciğerlere, 8'inde mezenteriumlara, 3'ünde kalbe, ikisinde böbreklere, ikisinde ovaryumlara yerleştiğini bildirmiştir(62). Biz de ekstansif tipte tavukçuluk yapılan bir çiftlikten Anabi-

lim Dalımıza getirilen 10 adet tüberkülozlu tavuğa yaptığımız otopsiler sonucunda lezyonların karaciğerlerde % 100, dalakta % 80, barsaklarda % 30, akciğerlerde % 50, böbreklerde % 30 oranında yerleştiğini saptadık. Anabilim Dalımıza getirilen tüberkülozlu tavuklardan izole ettiğimiz M.avium Y-1 suşuyla deneysel olarak infekte ettiğimiz 34 adet tavuğun otopsilerinde ise lezyonların, 30 tavukta (% 88.23) karaciğerlere, 30 tavukta (% 88.23) dalağa, 20 tavukta (% 58.82) böbreklere, 23 tavukta (% 67.64) yumurtalıklara ve bir tavukta (% 2.94) mezenteriumlara yerleştiğini gözlemledik.

Araştırmacılar, M.avium'un 25-45°C'ler arasında 10 gün - 3 hafta içinde ürediklerini belirtmişlerdir(6,7,51,52,89,96). Biz de çalışmamızda etkenin 37°C ve 42°C'lerde inkubasyonu sonucunda yalnızca 37°C'de üreme olduğunu ancak 42°C'de üreme olmadığını ve üremelerin inkubasyondan 1-2 hafta sonra başlayıp, koloni gelişiminin 5-8 haftada tamamlandığını gözledik.

Araştırmacılar, M.avium'un biyokimyasal aktivitelerini incelemişler ve sonuçların tiplendirmede yeterli olmadığını belirtmişlerdir(11,38,45,52,89,100). Bizim yaptığımız biyokimyasal aktivitelerin sonuçlarının da M.avium'un genel özelliklerine uyum sağladığı tarafımızdan saptanmıştır.

Birçok araştırmacı tavuk ve tavşanların M.avium'a karşı en duyarlı hayvan türleri olduğunu belirtmişlerdir. Collins ve ark., tipik ve atipik M.avium izolatlarının çoğunun tavuk ve tavşanları 100 günde öldürdüğünü(18), Engbaek ve ark., farklı hayvanlardan izole ettikleri M.avium suşlarının 5 mg miktarlarının tavşanları 50 günde, tavukları 60 günde öldürdüğünü(20); Akay ise hindilerden izole ettiği 16 M.avium suşunun 1 mg miktarlarının tavukları 35-135, tavşanları 25-96 günler arasında öldürdüğünü(1) saptamışlardır. Denemelerimizde izole ettiğimiz 2 suşun 0.1'er ml (1 mg/1 ml) miktarlarının ikişer adet tavuk ve tavşana inokulasyonu sonucunda tavukların 37. ve 210. günlerde, tavşanların 100. ve 165. günlerde öldüklerini saptadık. Deneysel olarak infekte ettiğimiz 3 gruba ait tavuklardan I.

gruptaki 15 adedinin 23-70. günler arasında, II. gruptaki 15 adedinin 22-40. günler arasında, III. gruptaki 4 adedinin 96-111. günler arasında öldükleri belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre daha az dozda (0.25 mg/ml) inokulasyon yapılan I. grup tavukların, yüksek dozda (0.5 mg/0.5 ml) inokulasyon yapılan II. gruba göre daha uzun süre yaşadıkları, doğal infeksiyon oluşturulan III. grup tavukların ise oldukça uzun süre yaşadıkları saptanmıştır.

Araştırmacılar, izole edilen *M.avium* suşlarının serotiplendirilmesi için uyguladıkları çeşitli serolojik çalışmalar sonucunda *M.avium* serotip 2'nin en çok karşılaşılan etken olduğunu belirtmişler ve araştırmacıların çoğu serotiplendirme amacıyla aglutinasyon testlerinden yararlanmışlardır. Schaefer, aglutinasyon yöntemiyle yaptığı tiplendirme çalışmalarını sonucunda tüberkülozlu tavuklardan elde ettiği 46 suşun bir tanesi dışında tümünün serotip 1 ya da serotip 2'ye ait olduğunu belirtmiştir(73). Yine Anz ve Meissner, Schaefer'in aglutinasyon yöntemini kullanarak evcil kanatlılar ve farklı hayvanlardan izole ettikleri 102 suşun 6 adedinin *M.avium* serotip 1, 89 adedinin *M.avium* serotip 2 olduğunu(5); Akay, 22 adet tüberkülozlu hindiden izole ettiği 16 suşun tümünün *M.avium* serotip 2 olduğunu(1) bildirmişlerdir. Biz de tavuklardan izole ettiğimiz *M.avium* Y-1 suşunu tiplendirmek için Schaefer'in aglutinasyon yöntemini uyguladık. Ancak izole ettiğimiz *M.avium* Y-1 suşundan hazırladığımız antijenin yurtdışından sağlanan standart antiserumlarla ve yurt dışından sağlanan antijenlerin kendi suşumuzu kullanarak elde ettiğimiz hiperimmun serumlarla çapraz reaksiyonlar vermesi nedeniyle elimizdeki suşun tipini belirleyemedik. Bu suş Almanya'nın Ludwig-Maximilians Üniversitesindeki Prof.Dr.Helga Gerlach tarafından tiplendirilerek, tarafımıza "*M.avium* serotip 2" olduğu bir raporla bildirildi.

Tavuk tüberkülozunun tanısı amacıyla serolojik ve allerjik testler araştırmacılar tarafından uygulanarak başarılı sonuçlar elde edilmiştir;

Araştırmacılar genellikle çabuk lam aglutinasyon testi ve tüberkülin testini karşılaştırarak tanıya gitmişlerdir. Bazı araştırmacılar çabuk lam

aglutinasyon testinin daha spesifik ve uygun olduğunu ve daha kısa sürede sonuç verdiğini bildirmişlerdir; Karlson ve ark., 282 tavuk üzerinde yaptıkları araştırmada 44 tavuğun hem aglutinasyon hem de tüberkülin testine pozitif yanıt verdiklerini buna karşın tüberkülin testine negatif yanıt veren 14 tavuğun aglutinasyon testine pozitif yanıt verdiğini saptamışlardır(42). Hiller, 118 tavuktan 5 adedinin çabuk lam aglutinasyonu ile, 13 adedinin tüberkülin testi ile(35); Schliesser ve Berger, 2428 tavuktan 308'inin çabuk lam aglutinasyonu ile, 160'ının tüberkülin testi ile(75) pozitif sonuç verdiklerini belirtmişlerdir.

Bazı araştırmacılar ise kanatlı tüberkülozunun tanısında, tüberkülin testinin çabuk lam aglutinasyon testinden daha iyi sonuç verdiğini saptamışlardır; Betke ve ark., 3208 tavuktan 151'ini çabuk lam aglutinasyon testiyle, 186'sını tüberkülin testiyle(14); Richter, 1438 tavuktan % 6.8'ini çabuk lam aglutinasyon testiyle, % 10.3'ünü tüberkülin testiyle(68) pozitif bulduklarını bildirmişlerdir.

Stoll ve Lucas ise, avian tüberkülozisin tanısında kanla çabuk aglutinasyon testinin tüberkülin testine oranla daha iyi sonuçlar verdiğini ancak saha taramalarında her iki uygulamanın da yapılmasının daha uygun olacağını çünkü aglutinasyon yapan antikorlarla, allerjiyi oluşturan antikorların kesin olarak ilgili olmadığını bunun için de aglutinasyon pozitif olduğu halde tüberkülin negatif olabileceğini ya da tam tersinin olabileceğini vurgulamışlardır(82). Biz de araştırmamızda tüberkülozun tanısı amacıyla uyguladığımız çabuk lam aglutinasyonu, tüp aglutinasyonu ve tüberkülin testlerinde başarılı sonuçlar elde ettik ve sonuçlarımızın araştırmacıların sonuçlarına uygun olduğunu gözledik.

Son yıllarda bazı araştırmacılar çeşitli hayvan türlerinde tüberkülozun tanısı amacıyla Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) yöntemini kullanmışlardır; Thoen ve ark., M.avium serotip 4/8 ile deneysel olarak infekte ettikleri domuzların kan serumlarında inokulasyon sonrası 2,4,6,8 ve 10. haftalarda pozitif ELISA reaksiyonları saptamışlardır. Araştırmacılar domuzlardan elde ettikleri serumları 1/5, 1/10, 1/20, 1/40'lık

dilasyonlarda kullanmışlar ve 1/20'lik dilasyonun en uygun sonucu verdiğini saptamışlardır(85). Yine Thoen ve ark., yaptıkları bir araştırmada tüberkülozlu lama, gergedan ve fillerin serumlarında antikorları saptamak için ELISA yöntemini kullanmışlar ve bu araştırmanın sonucunda konjugat olarak, horseradish peroksidaz ile işaretlenmiş protein A'nın kullanılabileceğini kanıtlamışlardır(91).

Yaptığımız literatür araştırmalarında tavuk tüberkülozunun tanısında ELISA yönteminin uygulandığına ilişkin bir kaynağa rastlamadık. Bu nedenle birçok hastalığın tanısında başarıyla kullanılan ELISA yönteminin tavuk tüberkülozunda uygulanmasının doğru olacağını düşünerek bu yöntemi de tanı amacıyla kullandık. Çalışmamızda, deneme tavuklarından inokulasyon sonrası 3. haftada alınan kan serumlarını 1/10, 1/20, 1/40, 1/80, 1/160 ve 1/1000 oranlarında sulandırdık. 1/160'lık sulandırmaya kadar olan sulandırmalarda Tablo 17, 18, 19. ve 20'de görüldüğü gibi sonuçların orantılı olduğunu ancak kontrol grubu tavukların serumları da dahil olmak üzere toplam 39 tavuk serumundan 27 adedinin (% 69.23), 1/160'lık sulandırmalarda orantısız sonuçlar verdiğini gözledik. Tekrarlanan ELISA deneylerinde 1/1000'lik sulandırmalarda da bazı orantısızlıkların olduğunu saptadık. Bu nedenle tavuk tüberkülozunun tanısında ELISA yöntemi kullanılacağı zaman sulandırmaların 1/10'dan 1/80'e kadar yapılması gerektiği görüşüne vardık. Elde ettiğimiz bu sonuçlar Thoen ve ark.(85)'nin yaptıkları çalışmanın sonuçlarına da paralellik göstermektedir.

Araştırmamızın sonucunda, tavuklarda tüberkülozun tanısı amacıyla kullanılan çabuk lam aglutinasyonu, yavaş tüp aglutinasyonu ve tüberkülin testlerini ELISA yöntemiyle karşılaştırdık ve buna göre ELISA yönteminin, tüberkülin ve aglutinasyon testlerine oranla pahalı bir yöntem olmasına karşın, çabuk, pratik, güvenilir ve daha kısa sürede sonuç vermesi nedeniyle tavuk tüberkülozunun tanısında tercih edilmesi gerektiği görüşündeyiz.

Ö Z E T

Çalışmamızda, ekstansif tipte tavukçuluk yapılan bir çiftlikten Anabilim Dalımıza getirilen tüberküloz şüpheli 10 adet ölü tavuktan 2 adet *M.avium* suşu (*M.avium* Y-1 ve Y-2) izole edildi ve bu suşlardan bir adedi (*M.avium* Y-1) serotiplendirme ve deneysel infeksiyon oluşturma amacıyla kullanıldı.

İzole edilen 2 suş, oda ısısında ve 68°C'de katalaz ve tellürit redüksiyon deneylerinde pozitif; niasin, Tween-80 hidrolizi, üreaz, nitrat redüksiyonu, MacConkey agarda ve % 5 NaCl'li ortamda üreme deneylerinde negatif bulundular.

Tavuk ve tavşanlarda yapılan patojenite denemeleri sonucunda her iki suşunda patojen oldukları saptandı.

M.avium Y-1 suşunun serotiplendirilmesi amacıyla Münih Ludwig-Maximilians Üniversitesi'ne gönderdiğimiz suşun *M.avium* serotip 2 olduğu bildirildi.

Çalışmamızda, *M.avium* Y-1 suşuyla, 3 gruba ayrılan 34 adet tavukta deneysel infeksiyon oluşturularak bu infeksiyondan 3 hafta sonra tavuklara tüberkülin uygulandı. Aynı zamanda kan serumları alınarak çabuk lam ve yavaş tüp aglutinasyon testleriyle ELISA yöntemi uygulandı.

Çalışmanın sonunda tüberkülin testi, aglutinasyon testleri ve ELISA yönteminin bir karşılaştırması yapıldı.

Tüberkülin testinde 34 adet tavuktan 24'ü pozitif bulundu. Tüp aglutinasyon testinde tüm kan serumlarının, 1/5'den 1/2560'a kadar yapılan sulandırmalarda kuvvetli derecede pozitif oldukları saptandı. Lam aglutinasyon testinde de tüm kan serumlarının pozitif reaksiyon verdiği görüldü. ELISA'da, 1/10, 1/20, 1/40, 1/80 ve 1/160'lık sulandırmalarda tüm kan serumları pozitif, 1/1000'lik sulandırmalarda ise yalnızca 7 tavuğun kan serumu negatif bulundu.

DeneySEL infeksiyon oluşturulan tavuklar 22-111 günde öldüler. Otopsilerinde lezyonların % 88.23 oranında karaciğerlere, % 88.23 oranında dalağa, % 67.64 oranında yumurtalıklara, % 58.82 oranında böbreklere ve % 2.94 oranında mezenteriumlara yerleştiği saptandı.

S U M M A R Y

In this study, two strains of *Mycobacterium avium* (*M. avium* Y-1 and Y-2) has been isolated from the 10 death domestic chickens with a suspected diagnosis of avian tuberculosis, that were admitted to the Department of Microbiology, Veterinary Faculty of Istanbul. *M. avium* Y-1 strain has been used for serotyping and experimental infection.

These two isolated strains showed positive reactions in catalase test at both room temperature and 68°C, and in tellurite reduction test. Negative results were obtained in niacin, Tween-80 hydrolisis, urease and nitrate reduction tests. No growth were observed both on Mac Conkey agar and on Lowenstein - Jensen medium containing 5 % NaCl.

Both strains were found to be pathogen in the pathogenicity experiments performed in chickens and rabbits.

Alive samples of *M. avium* Y-1 strain sent to the Ludwig - Maximilians University, Munich and was confirmed serotyped as serotype 2.

Thirty-four chickens experimentally infected with *M. avium* Y-1 strain were studied in three groups. Tuberculin tests were performed three weeks after infection. Blood serum samples taken at the same time were analysed using slide agglutination, tube agglutination and ELISA tests. The results from these tests were compared.

Twenty-four of 34 chickens gave positive reactions in tuberculin tests. All sera showed strong positive reactions at a dilution of 1/5 to 1/2560 in the tube agglutination test, and in the slide agglutination test. Positive results were also demonstrated in all sera at a dilution of 1/10, 1/20, 1/40, 1/80 and 1/160 in ELISA tests. Seven sera from 34 infected chicken gave negative results at a dilution of 1/1000 in the same test.

Infected chickens died between 22 and 111 days after infection. Postmortem examinations showed that the lesions were localised in the liver of 30 cases (88.23 %), in the spleen of 30 cases (88.23 %), in the ovarium of 25 cases (67.64 %), in the kidney of 20 cases (58.82 %) and in the mesenterium of one cases (2.94 %).

KAYNAKLAR

- 1- AKAY, Ö (1980): Hindi tüberküloz etkenlerinin izolasyon, identifikasyon, tiplendirilmesi ile deneysel hindi tüberkülozisinde allerjik ve serolojik yöntemlerin uygulanması üzerinde araştırmalar. Doçentlik Tezi. A.Ü.Vet.Fak., Ankara.
- 2- AKAY,Ö., AYDIN,N., ARDA,M., HAZIROĞLU,R. (1984): Bir minkte saptanan tüberkülozis olgusu üzerinde araştırma. A.Ü.Vet.Fak. Derg., 31:463-470.
- 3- AKAY,Ö., HAZIROĞLU,R., KUTSAL,O. (1985): Bir kedide rastlanan tüberküloz olgusu. A.Ü.Vet.Fak. Derg., 32:438-445.
- 4- AMSTUTZ,H.E., ARCHIBALD,J., ARMOUR,J., BLOOD,D.C., NEWBERNE,P.M., SNOEYENBOS,G.H. (1986): The Merck Veterinary Manual. 6. Ed. RAHWAY,N.J., U.S.A.
- 5- ANZ,W., MEISSNER,G. (1969): Serotypen von Stämmen der aviären Mykobakteriengruppe, isoliert von Mensch und Tier. Ihre epidemiologischen Beziehungen. Prax. Pneumol. 23:221-230.
- 6- ARDA,M., MİNBAI,A., AYDIN,N., AKAY,Ö., İZGÜR,M. (1990): Kanatlı Hayvan Hastalıkları. Ankara.

- 7- ARDA,M., MİNBAŞ,A., LELOĞLU,N., AYDIN,N., AKAY,Ö. (1992): Özel Mikrobiyoloji. Epidemiyoloji, Bakteriyel ve Mikotik İnfeksiyonlar. Atatürk Üniv.Yay.No:741, Kars Vet.Fak. Yay.No: 1, Ders Kitapları Serisi No:1, Atatürk Üniv. Basımevi, Erzurum
- 8- ASHOUR,N. (1972): Contribution to the experimental infection of young chickens with Mycobacterium avium. Acta Vet. Brno., 41:421-427.
- 9- AYDIN,N. (1983): Kanatlı Tüberkülozu. Kanatlı Hayvanların İnfeksiyon Hastalıkları ve Laboratuvar Teşhis Yöntemleri. Pendik Vet. Kont.Araş.Ens.Yay., 7:42-51.
- 10- BAKER,J.R. (1973): A case of generalised avian tuberculosis in a horse. Vet.Rec., 93:105-106.
- 11- BARTON,M.L., ACLAND,H.M. (1972): Mycobacterium avium serotype 2 infection in a sheep. Australian Veterinary Journal.49:212-213.
- 12- BAŞKAYA,H., AYDIN,N., AKAY,Ö. (1983): Kanatlı tüberkülozisinin teşhisinde allerjik ve serolojik yöntemlerin karşılaştırılması üzerinde bir araştırma. A.Ü.Vet. Fak. Derg., 30:440-448.
- 13- BENNEDSEN,J. (1968): The specificity of circulating antibodies in experimental infection with Mycobacterium avium demonstrated by immunofluorescence. Acta Path. et Microbiol. Scandinav., 72:330-336.
- 14- BETKE,P., BLUM,H., GRAUBMANN,H.D. (1964): Untersuchungen über die Frischblut-Agglutination zur Diagnose der Hühnertuberkulose. Mh.Vet.Med., 19:507-509.
- 15- BİLGEHAN,H. (1992): Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Barış Yayınları. Fakülteler Kitapevi. İzmir.

- 16- CASSIDY,D.R., MOREHOUSE,L.G., McDANIEL,H.A. (1968): Mycobacterium avium infection in cattle. A case series. Amer.J.Vet. Res., 29:405-410.
- 17- CHITI,G. (1938): Gelingt es, tuberkelbazillen des Typus gallinaceus nach ihrem Wachstum in flüssiger kultur von anderen Saurefesten sicher zu unterscheiden. Zbl. Bakt. Abt.I. Orig., 142:313-316.
- 18- COLLINS,P., MATTHEWS,P.R.J., McDIARMID,A., BROWN,A. (1983): The pathogenicity of Mcobacterium avium and related mycobacteria for experimental animals. J.Med. Microbiol., 16:27-35.
- 19- ELLSWORTH,S., KIRKBRIDE,C.A., JOHNSON,D.D. (1980): Excretion of Mycobacterium avium from lesions in the intestine and tonsils of infected swine. Amer.J.Vet.Res., 41:1526-1530.
- 20- ENGBAEK,H.C., VERGMANN,B., BAESS,L., BENTZON,M.W. (1968): Myacobacterium avium. A bacteriological and epidemiological study of Mycobacterium avium isolate from animals and man in Denmark. Acta Path. Microbiol. Scand., 72:277-294.
- 21- ENGEL,H.W.B., BERWALD,L.G. (1970): A simplified agglutination test for serologic typing of Mycobacteria. Amer.Rev.Resp.Dis., 101:112-115.
- 22- FALK,G.A., HADLEY,S.J., SHARKEY,F.E., LISS,M., MUSCHENHEIM,C. (1973): Mycobacterium avium infections in man. Amer.J. Med., 54:801-810.
- 23- FEDOSEEV, V.S. (1956): Control of avian tuberculosis in poultry farms. Veterinariya, Moscow., 33:26-30.

- 24- FORSTER,F., GERLACH,H., KÖSTERS,J. (1988): Mykobakterien bei papageien und sittichen (Psittaciformes). Dtsch. tierarztl. Wschr., 95:338-342.
- 25- FROMAN,S., SCAMMON,L. (1963): Effect of temperature on the bacteriophage susceptibility of strains of Mycobacterium avium isolated from fowl. Amer.Rev. Resp.Dis., 89:236-239.
- 26- FURTH,J. (1926): On the serological relationship of acid-fast bacteria. J.Immunol., 12:273-292.
- 27- GILL,I.J., BLANDY,M.L. (1986): Control of avian tuberculosis in a commercial poultry flock. Aust.Vet.J., 63:422-423.
- 28- GORDON,R.F., JORDAN,F.T.W.(1982): Poultry Diseases. Second Ed., Bailliere Tindall. London.
- 29- GRAHAM,R., THORP,F. (1930): Tuberculosis of fowls. University of Illinois. College of Agriculture. Agricultural Experiment Station and Extension Service in Agriculture and Home. Economics. Circular 354, 1-11.
- 30- GRIFFITH,A.S. (1925): The serological classification of mammalian and avian tubercle bacilli. Tubercle., 6:417-434.
- 31- GRIMES,T.M., SIMMONS,G.C., ROWAN,K.J. (1971): Tuberculosis caused by Mycobacterium avium type 1 in fowls and a wild duck. Aust. Vet. J., 47:72-73.
- 32- GUDI,T.H. (1968): Avian tuberculosis in fowls (Gallus gallus) in Gujarat State-A record. Indian Vet.J., 46:260-261.

- 33- GUINDI,S.M. (1964): Vaccination of fowls against tuberculosis: An experimental study on the immunizing value of BCG vaccine and a heat-killed tubercle bacilli vaccine (avian type). *Vet. Bull.*, 34:3216. Abst.
- 34- HALIK,J. (1960): Diagnostics of tuberculosis in fowl by a fast drop agglutination of blood and serum. *Vet. Cas.*, 9:550-559.
- 35- HILLER,K. (1961): Die diagnose der Geflügeltuberkulose mit Hilfe einer Frischblut-Schnellagglutination. *Vet. Med. Diss.*, 676-677. Abst.
- 36- HINSHAW,W.R., NIEMANN,K.W., BUSIC,W.H. (1932): Studies of tuberculosis of turkeys. *J.Amer. Vet. Med. Ass.*, 80:765-777.
- 37- HOFSTAD,M.S., CALNEK,B.W., REID,W.M., YODER,H.W. (1972): *Diseases of Poultry*. 6. Ed., The Iowa State University Press, Ames.
- 38- HOLUB,M. (1983): Cultural, biochemical and serological properties of avian and atypical bacilli isolated from pigs slaughtered in the Bialystok Abattoir. *Polskie Archiwum Weterynaryjne*, 99-111.
- 39- HOWARD,B.J., KLAAS,J., RUBIN,S.J., WEISSFELD,A.S., TILTON,R.C. (1987): *Clinical and Pathogenic Microbiology*, The C.V. Mosby Company. St.Louis, Washington,D.C., Toronto.
- 40- ISHIKO,H., SHIMIZU,K. (1975): Studies on serological identification of the Mycobacterium avium-M intracellulare complex with special reference to the fluorescent antibody test. *Jap.J. Vet. Sci.*, 37:11-20.
- 41- KARLSON,A.G., THOEN,C.O., HARRINGTON,R. (1970): Japanese Quail: Susceptibility to avian tuberculosis. *Avian Dis.*, 14:39-44.

- 42- KARLSON,A.G., ZINOBER,M.R., FELDMAN,W.H.(1950): A whole blood rapid agglutination test for avian tuberculosis. Amer.J. Vet. Res., 11:137-141.
- 43- KASSICH,IuIa., KOCHMARSKII,V.A., ZAVGORODNII,A., BORZIAK,A.T., KOROTCHENKO,N.V., MANCHENKO,V.M., KRYZHANOVSKII,D.G., KOZHUSHKO,M.Iu. (1990): The interrelation of bovine and human tuberculosis. Probl. Tuberk., 6:23-6. Abst.
- 44- KAUKER,E., RHEINWALD,W. (1972): Untersuchungen über das Vorkommen atypischer Mykobakterien der Gruppe 3 nach Runyon in Einstreu (Sgemehl) und Futter von Schweinen in Nordhessen. Berl. München. tierarztl. Wschr., 85:384-387.
- 45- KESTLE,D.G., ABBOTT,V.D., KUBICA,G.P. (1967): Differential identification of mycobacteria. II. Subgroups of groups II and III (Runyon) with different clinical significance. Amer.Rev. Resp. Dis., 95:1041-1052.
- 46- KEYHANI,M. (1972): La restriction de la valeur du test d'agglutination rapide dans le diagnostic de la tuberculose aviaire. Revue Med. Vet., 123:1089-1094.
- 47- KLEIN,E., STEFFKE,E. (1959): Zur epizootologischen Bedeutung der Geflügeltuberkulose und über die diagnostische Leistungsfähigkeit der intrakutanen Tuberkulin probe beim Huhn. Mh. Vet. Med., 14:142-149.
- 48- KOVACS,N. (1966): New bacteriological, epidemiological and clinical aspect of "anonymous" ("atypical") mycobacteria. Bull. Int. Un. Tuberc., 37:351-360.

- 49- KOZINN,W.P., DAMSKER,B., BOTTONE,E.J. (1980): Mycobacterium avium complex: Significance of isolation from bone marrow culture. J.Clin.Microbiol., 11:245-248.
- 50- KRAUSE,E. (1958): Die Einzell-Kultur des Mycobacterium tuberculosis avium glatte und rauhe Varianten-Tierversuch. Zbl. Bakt. Parask. Inf. Hyg. I. Orig., 171:497-503.
- 51- KUBICA,G.P., DAVID,H.L. (1980): Gradwohl's Clinical Laboratory Methods and Diagnosis: The Mycobacteria. Ed.by. Sonnerwith,A.C., Jarett,L. 8.Ed., The C.V. Mosby Company. St Louis-Toronto-London.
- 52- KUBIN,M., MATUSKOVA,E. (1968): Serological typing of Mycobacteria for tracing possible sources of avian mycobacterial infections in man. Bull. Org. Mond. Sante. 39:657-662.
- 53- KUMMENEJE,K., FODSTAD,F.H. (1976): A case of avian tuberculosis in sheep. Acta Vet. Scand, 17:286-292.
- 54- KWATRA,M.S., SHARMA,G.L., SINGH,G. (1972): Passive hemagglutination test in diagnosis of experimental tuberculosis in ducks, compared with other fowl. Avian Dis., 16:1035-1041.
- 55- LESSLIE,I.W., FORD,E.J.H., LINZELL,J.L. (1960): Tuberculosis in goats caused by the avian type tubercle, bacillus. Vet.Rec., 72:25-27.
- 56- LUMEIJ,J.T., NIE,G.J. (1982): Tuberculosis in raptorial birds. Tijdschr. Diergeneesk., 107:573-580.
- 57- MARKS,J., JENKINS,P.A., SCHAEFER,W.B. (1969): Identification and incidence of a third type of M.avium.Tubercle, 50:394-395.

- 58- MATTHEWS,P.R.J., McDIARMID,A. (1977): Mycobacterium avium. infection in freeliving hedgehogs (Erinaceus europaeus L). Res.Vet. Sci., 22:388.
- 59- MONTALI,R.J., BUSH,M., THOEN,C.O., SMITH,E. (1976): Tuberculosis in captive exotic birds. J.Amer. Vet. Med.Assoc., 169:920-927.
- 60- MORFITT,D.C., MATTHEWS,J.A., THOEN,C.O., KLUGE,J.P. (1989): Disseminated Mycobacterium avium serotype 1 infection in a seven-month-old cat. J.Vet.Diagn.Invest., 1:354-356.
- 61- MOSES,H.E., FELDMAN,W.H., MANN,F.C. (1943): Mycobacterial rapid agglutination antigens and their diagnostic value in tuberculosis of fowl. Amer.J.Vet. Res., 4:390-394.
- 62- MUTALIB,A.A., RIDDELL,C. (1988): Epizootiology and pathology of avian tuberculosis in chickens in Saskatchewan. Can.Vet.J., 29:840-842.
- 63- NASSAL,J. (1963): Untersuchungen über die Brauchbarkeit der Frischblut-Schnellagglutination zur Feststellung der Tuberkulose beim Huhn. Mh. tierhk. 15, Sonderteil, 12:109-116.
- 64- NEUMANN,H., GERLACH,H. (1988): Avian mycobacteriosis-Further results. Institut für Geflügelkrankheiten. Ludwig-Maximilians-Universität. München 8042. Oberschleissheim, West Germany, 191-199.
- 65- ODIAWO,G.O., MUKURIRA,J.M. (1988): Avian cerebral tuberculosis. Vet. Rec., 122:279-280.
- 66- PROCHOROW,A.W. (1958): Agglutination test for diagnosis of tuberculosis in birds. Veterinarija Moscow. 35:60-64.

- 67- REZNIKOV, M., LEGGO, J.H. (1972): Modification of Schaefer's procedure of serotyping of organisms of the *Mycobacterium avium*-*M. intracellulare*-*M. scrofulaceum* complex. *Appl. Microbiol.*, 23:819-823.
- 68- RICHTER, W. (1965): Die Entwicklung eines Antigens für die Frischblut-Schnellagglutination zur Diagnose der Geflügeltuberkulose. *Arch. exp. Vet. Med.*, 19:297-299.
- 69- ROFFE, T.J. (1989): Isolation of *Mycobacterium avium* from waterfowl with polycystic livers. *Avian Dis.*, 33:195-198.
- 70- ROSSI, L. (1974): Immunizing potency of inactivated and living *Mycobacterium avium* and *Mycobacterium intracellulare* vaccines against tuberculosis of domestic fowls. *Acta Vet. Brno.*, 43:133-138.
- 71- SAXEGAARD, F. (1981): Serological investigations of *Mycobacterium avium* and *M. avium*-like bacteria isolated from domestic and wild animals. *Acta Vet. Scand.*, 22:153-161.
- 72- SCHAEFER, W.B. (1965): Serologic identification and classification of the atypical mycobacteria by their agglutination. *Amer. Rev. Resp. Dis.*, 97:18-23.
- 73- SCHAEFER, W.B. (1967): Incidence of the serotypes of *M. avium* and atypical mycobacteria in human and animal diseases. *Amer. Rev. Resp. Dis.*, 97:18-23.
- 74- SCHAEFER, W.B., DAVIS, C.L., COHN, M.L. (1970): Pathogenicity of transparent, opaque and rough variants of *Mycobacterium avium* in chickens and mice. *Amer. Rev. Resp. Dis.*, 102:499-506.
- 75- SCHLIESSER, T., BERGER, W. (1962): Vergleichende Untersuchungen mit der Frischblut - Schnellagglutination und der Tuberkulin - Kehllappen - Probe bei Hühnern. *Mh. Tierhk.*, 14:91-98.

- 76- SCHLIESSER,T., HILLER,K. (1961): Eine Frischblut-Schnellagglutination zur Diagnose der Geflügeltuberkulose. Mh. Tierhk., 13:201-207.
- 77- SCHOOP,G., STOLL,L., SIAM,M.A. (1967): Zur Frage der Spezifität der Frischblut schnellagglutination bei Geflügeltuberkulose. Dtsch. tierärztl. Wschr., 74:297-301.
- 78- SEZEN,Y., ERER,H., ERGANİŞ,O. (1986): Bir güvercinde tüberküloz olgusu. S.Ü. Vet. Fak. Derg., Cilt: 2, Sayı:1, 163-166.
- 79- SMITH,K.E., HUNT,R.D., GARCIA,F.G., FRASER,C.E.O., MERKAL,R.S., KARLSON,A.G. (1973): Avian tuberculosis in monkeys. Amer. Rev. Resp. Dis., 107:469-471.
- 80- STANFORD,J.L., MUSER,R. (1969): A bacteriological and serological study of Mycobacterium avium and related strains. Tubercle Lond., 50:80-83.
- 81- STOLL,L. (1967): Zur Frage der Spezifität der Frischblut-Schnellagglutination bei Geflügeltuberkulose. Dt.tierärztl. Wschr., 27:280-283.
- 82- STOLL,L., LUCAS,H. ((1983): Vergleichende Untersuchungen zur Diagnose der Geflügeltuberkulose mit Hilfe der Tuberkulin-Kehllappenprobe und der Frischblut-Schnellagglutination. Rindertuberk. und Brucell, 12:164-169.
- 83- TAKEYA,K., YOSHIMURA,T. (1967): Isolation of bacteriophage active against all types of Mycobacterium tuberculosis. J.Bact., 47:540-541.
- 84- TARSHIS,M.S. (1961): Some useful procedures for group differentiation of Mycobacterium tuberculosis, unclassified mycobacteria and saprophytic acid-fast bacilli. J.Lab. Clin. Med., 57:480-489.

- 85- THOEN,C.O., ARMBRUST,A.L., HOPKINS,M.P. (1979): Enzyme - linked immunosorbent assay for detecting antibodies in swine infected with *Mycobacterium avium*. *Amer. J. Vet. Res.*, 40:1096-1099.
- 86- THOEN,C.O., EACRET,W.G., HIMES,E.M. (1978): An enzyme - labeled antibody test for detecting antibodies in chickens infected with *Mycobacterium avium* serotype 2. *Avian Dis.*, 22:162-166.
- 87- THOEN,C.O., JARNAGIN,J.L., CHAMPION,M.L. (1975): Micromethod for serotyping strains of *Mycobacterium avium*. *J.Clin. Microbiol.*, 1:469-471.
- 88- THOEN,C.O., JOHNSON,D.W., HIMES,E.M. (1976): Experimentally induced *Mycobacterium avium* serotype 8 infection in swine. *Amer. J.Vet. Res.*, 37:177-181.
- 89- THOEN,C.O., KARLSON,A.G. (1991): Tuberculosis. In *Diseases of Poultry* (edited by Calnek,B.W., Barnes,H.J., Beard,C.W., Reid,W.M., Yoder,H.W) Ames, IA 50010, USA; Iowa State University Press. Ed. 9, 172-185.
- 90- THOEN,C.O., KARLSON,A.G., HIMES,E.M. (1981): Mycobacterial infections in animals. *Rev. Infect. Dis.*, 3:960-972.
- 91- THOEN,C.O., MILLS,K., HOPKINS,M.P. (1980): Enzyme-linked protein A: An enzyme-linked immunosorbent assay reagent for detecting antibodies in tuberculous exotic animals. *Amer.J.Vet. Res.*, 41:833,835.
- 92- TIMONEY,J.F., GILLESPIE,J.H., SCOTT,F.W., BARLOUGH,J.E. (1988): Hagan and Bruner's *Microbiology and Infectious Diseases of Domestic Animals*. 8. Ed. Comstock Publishing Associates. A division of Cornell University Press. Ithaca. London.

- 93- TUNKL,B. (1958): Die diagnose der Hühnertuberkulose mit der Voll-blut-Schnell-Agglutination Die Veterinar-medizin. 11:430.
- 94- UEDA,K., YAMAZAKI,S., YAMAMOTO,S. (1989): Mycobacterium avium infection through the alimentary tract in mice. Jpn. J. Vet. Sci., 51:505-514.
- 95- WARDS,B.J., LISLE,G.W., YATES,G.F., DAWSON,D.J. (1991): Characterization by restriction endonuclease analysis and seroagglutination of strains of Mycobacterium avium and Mycobacterium intracellulare obtained from farmed deer. Amer. J. Vet.Res., 52:197-201.
- 96- WILSON,J.E. (1961): Avian Tuberculosis. An account of the disease in poultry, captive birds and wild birds. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food Laboratory, Lasswade, Midlothian, 380-393.
- 97- WINDSOR,R.S., DURRANT,D.S., BURN,K.J., BLACKBURN,J.T. (1984): Avian tuberculosis in pigs: miliary lesions in bacon pigs. J.Hyg.Camb., 12:129-138.
- 98- YANAGIHARA,D.L., BARR,V.L., KINSLEY,C.V., TSANG,A.Y., McCLATCHY,J.K., BRENNAN,P.J. (1985): Enzyme - linked immunosorbent assay of glycolipid antigens for identification of Mycobacteria. J.Clin Microbiol., 21:569-574.
- 99- YODER,W.D., SCHAEFER,W.B. (1971): Comparison of the seroagglutination test with the pathogenicity test in the chicken for the identification of Mycobacterium avium and Mycobacterium intracellulare. Amer. Rev. Resp. Dis., 105:173-178.
- 100- ZORAWSKI,C., SKWAREK,P., KARPINSKI,T. (1975): Some serological and biochemical properties of mycobacterium avium isolated from different animals. Bull. Vet. Inst. Pulawy., 19:55-59.

ÖZGEÇMİŞ

Konya'da 1965 yılında doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi çeşitli illerde tamamladım. Sonra 1982 yılında girdiğim İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesinden 1987 yılında mezun oldum. 1988 yılı Ocak ayında İ.Ü. Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak göreve başladım. 1988 yılı şubat ayında doktora sınavını kazanarak doktora çalışmalarına başladım.

Halen İ.Ü. Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktayım.

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ