

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

99116

**AVIAN ENCEPHALOMYELITİS (AE) VİRUSU
İLE ENFEKTE EDİLMİŞ KAZ (ANSER ANSER)
EMBRYOLARINDA PATOLOJİK
İNCELEMELER**

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

DOKTORA TEZİ

İhsan YAMAN

F.Ü. VETERİNER FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Harun ÖZER

99116

ELAZIĞ - 1999

İ Ç İ N D E K İ L E R

	Sayfa No:
1. ÖNSÖZ	I
2. GİRİŞ	1
2.1. Avian Encephalomyelitis (AE) Hastalığı ve Tarihçesi.....	1
2.2. Etiyoloji.....	3
2.2.1. AE Virusunun Karakteristik Özellikleri.....	3
2.2.2. AE Virusunun Biyolojik Özellikleri.....	4
2.2.2.a Doğal Suşlar (Saha suşları).....	4
2.2.2.b Embriyoya Adapte Suşlar (Van Roekel Suşu).....	4
2.3. Epizootiyoloji.....	5
2.3.1. AE'in Doğal ve Deneysel Konakçıları.....	5
2.3.2. AE'in Bulaşması.....	6
2.4. AE'in Patogenezi.....	7
2.5. AE'in Klinik Semptomları.....	10
2.6. Doğal ve Deneysel AE Olaylarında Merkezi Sinir Sistemi ve Diğer Organlarda Gözlenen Morfolojik Lezyonlar	13
2.6.1. Makroskobik Lezyonlar.....	13
2.6.2. Mikroskobik Lezyonlar.....	14
2.7. AE'in Tanı ve Ayırıcı Tanısı.....	17
2.8. AE'in Tedavi, Koruma ve Kontrolü.....	18
3. MATERYAL VE METOT	19
3.1. Materyal.....	19
3.1.1. Virus Suşu.....	19
3.1.2. Yumurtalar.....	19
3.2. Metot.....	19
4. BULGULAR	23
4.1. Makroskobik Bulgular.....	27
4.2. Mikroskobik Bulgular.....	30
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	34
6. ÖZET	42
7. SUMMARY	44
8. RESİMLER	46
9. KAYNAKLAR	57
10. ÖZGEÇMİŞ	64
11. TEŞEKKÜR	65

1. ÖNSÖZ

Dünyamız üzerinde yaşayan toplumların en önemli sorunlarının başında yeterli ve dengeli beslenme gelmektedir. Hızla artan dünya nüfusu, insan beslenmesinde özellikle de hayvansal protein ihtiva eden besin maddelerine talebi arttırmaktadır. Dünyanın bir çok bölgesinde büyük bir protein açığı mevcuttur. Tüm ülkelerde özellikle geri kalmış ve gelişmekte olan ülkelerde bu protein açığı sorununun kapatılabilmesi için önemli çalışmalar yapılmaktadır. Hayvan yetiştiriciliği açısından, kanatlı yetiştiriciliği hem kolay, hem de ekonomik olduğundan, bu ülkelerde kanatlı hayvan yetiştiriciliği hızlı bir gelişme göstermektedir. Kolay üretilmesi, ekonomik olması, sevilerek yenilmesi ve insan sağlığına uygun olması nedeniyle gıda özellikleri açısından kanatlı ürünleri ülkemizde hayvansal protein açığının kapatılmasında tercih edilir duruma gelmiştir. Bu nedenle tüm ülkelerde olduğu gibi, ülkemizde de, kanatlı yetiştiriciliğinin son yıllarda göstermiş olduğu bu gelişmeye paralel olarak, hayvansal protein ihtiyacının büyük bir kısmı kanatlı eti ve yumurtası ile karşılanmaya başlanmıştır. Kazlar, lezzetli etleri, yağları, karaciğerleri, tüyleri ve yumurtalarıyla çeşitli ve bol verim sağlayan kanatlı hayvanlardandır. Ülkemizde kaz yetiştiriciliği halen küçük aile işletmeleri halinde yapılmakta olup, istenilen gelişme seviyesine ulaşamamıştır.

Ülkemizde hayvancılık sektörü içerisinde yeri ve önemi tartışılmaz olan kanatlı yetiştiriciliğinin her geçen gün hızlı bir gelişme göstermesi, yeni problemleri de beraberinde getirmektedir. Kanatlı yetiştiriciliğinde gelişmekte olan ülkelerde değişik ırkların ülkeye sokulması ile kültür ırkı kanatlıların hastalıkları olarak tanımlanan İnfeksiyöz Bronşitis, İnfeksiyöz Bursitis, Laringotrahitis ve Avian Encephalomyelitis (AE) gibi enfeksiyonların da bu ülkelerin kanatlı hayvanları arasında yayılmasına

neden olmaktadır. Adı geçen bu viral enfeksiyonlar kumes hayvanlarında gerek ölümler, gerekse verimde (et-yumurta yönlü) düşmeler meydana getirmek suretiyle büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır.

AE'in aniden görülmesi ve önceden tahmin edilemeyen sonuçlara neden olması üreticileri her zaman için endişelendirmiştir. Bu endişeleri en aza indirmek ve verimliliği arttırmak için çeşitli kontrol önlemleri ile birlikte, doğru ve çabuk teşhislerin yapılması gerekmektedir.

Son yıllarda tavuk, hindi, bıldırcın gibi kanatlıların doğal enfeksiyonlarında Avian Encephalomyelitis Virusu'nun (AEV) izolasyonu, diğer kanatlı türlerinde de hastalıkla ilgili çalışmaların devam ettiğini göstermiştir. Ancak yapılan literatür taramalarında, kaz ve kaz embriyolarında AE ile ilgili doğal ya da deneysel amaçlı bir çalışmanın yapılmadığı saptanmıştır.

Bu alışma ile kaz (Anser anser) embriyolarında AE'in deneysel olarak oluşturulması, embriyoların AEV'na duyarlılıkları, embriyoda oluşan makroskobik ve mikroskobik değişimlerin ortaya konulması ile bu değişimlerin, diğer kanatlı türlerinin doğal ve deneysel enfeksiyonlarında bildirilen bulgularla karşılaştırılması amaçlanmıştır.

2. GİRİŞ

2.1. Avian Encephalomyelitis (AE) Hastalığı ve Tarihçesi

Avian Encephalomyelitis, Epidemik tremor ya da civcivlerin salgın titreme hastalığı olarak bilinen bu hastalık; genç tavuklarda, özellikle civcivlerde; klinik olarak baş ve boyun bölgesindeki ataksi ve tremor, bacak ve kanatlarda parezis, paralizis gibi merkezi sinir sistemi bozuklukları, erginlerde yumurta veriminde düşmeler ve embriyo ölümleri ile karakterize, bulaşıcı viral bir hastalıktır (2, 3, 11, 14, 20, 23, 30, 39, 40, 46, 54, 58, 60).

AE ilk olarak 1930 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde 2 haftalık Rhodeisland Red civcivlerinde tespit edilmiştir. Ancak bu salgında sadece tremorların gözleendiği, ataksilerin ise gözlenmediği kaydedilmiştir (3, 26, 30, 60). 1931 yılının Nisan ayında aynı anaçlardan alınan iki farklı kümeste, 1 ila 4 haftalık civcivlerde ikinci bir salgının tespit edildiği ve bu salgında ataksi ve tremorun birlikte gözleendiği bildirilmiştir (30, 60). Bunu izleyen yıllarda Connecticut, Maine, Massachusetts ve New Hampshire'da salgınların sayısında bir artışın olduğu belirtilmiştir (30). Epidemik tremor olarak bilinen hastalık (3, 23, 26, 46), 1938-1939 yılında Van Roekel ve ark. tarafından İnfeksiyöz Avian Encephalomyelitis olarak adlandırılmış (60), sözü edilen bu terim yine 1939 yılında, American Veterinary Medical kurumunun kanatlı hastalıkları komisyonu tarafından görüşülmüş ve enfeksiyon, Avian Encephalomyelitis adı ile kabul edilmiştir (6).

1934 yılında ilk kez, doğal olarak tavuklarda şekillenmiş olan AE vakalarından alınan beyin homojenatları duyarlı civcivlere intraserebral yolla deneysel olarak inoküle edilmiş ve deneysel enfeksiyonun 12 ila 28. günleri arasında hastalığın klinik belirtileri ortaya konulmuş ve etken üretilmiştir (30, 41, 46, 60).

Hastalığın coğrafik dağılımı, dünyada hemen hemen her kıtada bildirilmiş ve bunun ise hastalığın yaygın olduğu Amerika Birleşik Devletleri'nden dünyanın çeşitli bölgelerine hayvan nakilleri nedeniyle bulaştığı kaydedilmiştir (30, 60). Yapılan incelemelere göre hastalığın Amerika Birleşik Devletleri'nin dışında 1948 yılında Hollanda'da, 1952 yılında Avustralya'da, 1955 yılında İngiltere'de, 1957 yılında İsveç ve Fransa'da, 1958 yılında Kanada, Kore, İskoçya ve Belçika'da, 1959 yılında Finlandiya, Danimarka ve Avusturya'da, 1960 yılında Almanya'da, 1962 yılında İtalya ve İspanya'da, 1964 yılında Japonya'da ve 1970 yılında Macaristan'da saptandığı bildirilmiştir (59, 60). Ülkemizde ise hastalık ilk defa, histopatolojik olarak, 1971 yılında Ankara yöresinde Hybro ve Leghorn ırkı civcivlerde teşhis edilmiştir (18). O zamandan bu güne kadar da artan sayıda yeni salgınların olduğu çeşitli araştırmacılarca rapor edilmiştir (4, 20, 43, 54).

Kanatlı yetiştiriciliğinde, gelişmekte olan ülke kanatlı hayvanlarında olduğu gibi, ülkemiz kanatlılarında da getirilen damızlık civciv, yumurta ve canlı aşılarla ülkemizde görülmeyen, ancak literatür kayıtlarında bulunan bazı hastalıkların ülkemiz kümes hayvanlarında görülmeye ve yayılmaya başladığı araştırmacılar tarafından yapılan incelemelerle ortaya konmuştur (4, 43). Hastalıkta, virusun yumurta ile nakledilebileceği bildirilmiş (1 - 3, 46, 60), bu durumun dünyanın her tarafında, piliç endüstrisinde, kuluçka tavuklarında ve belli yetiştirme tesislerinde büyük ekonomik problemleri doğurduğu kaydedilmiştir (60). Yine enfeksiyonun ani olarak ortaya çıkması, hızlı yayılması, oldukça şiddetli seyretmesi nedeniyle hastalığın; kuluçka tavukçuları ve piliç üreticileri tarafından büyük bir ilgi odağı haline geldiği belirtilmiştir (58). Ayrıca hastalığın küçük aile işletmelerinde büyük bir tehdit oluşturmadığı, sürülerde ise büyük ekonomik kayıplara neden olduğu rapor edilmiştir (4).

AE'in yılın hemen hemen tüm mevsimlerinde görüldüğü (1), ancak soğuk mevsimlerde oldukça yaygın, sıcak mevsimlerde ise sporadik olarak ortaya çıktığı belirtilmiş, özellikle Ocak'tan Haziran ayına kadar ki sürede belirgin bir artış gösterdiği ifade edilmiştir (16, 59).

2.2. Etiyoloji

2.2.1. AE Virusunun Karakteristik Özellikleri

Etken, picornaviridae grubunun enterovirus genusundan olup, RNA özelliğinde genetik materyal taşıyan AEV'dur (2, 3, 12, 17, 30, 48). Fiziksel, kimyasal ve serolojik testler sonucu virusun laboratuvar suşu ile saha suşları arasında önemli bir farklılığın olmadığı kaydedilmiştir (3, 12, 30). Virusun temel lipid'lere sahip olmadığı, çoğunun ısıya karşı dirençli ve magnezyum iyonları ile ısının etkisine dayanıklı olduğu bildirilmiştir (12). Bu virusun, kloroform, asit (pH 2.8), pepsin, tripsin, deoksiribonükleaz ve eter'e dirençli olduğu, ribonükleaz'dan oldukça az etkilendiği, antiseptiklere ise duyarlı olduğu vurgulanmıştır. Yine etkenin kış aylarında kümeslerde bir kaç hafta canlı kalabildiği, ayrıca -60 °C de uzun süre aktivitesini sürdürdüğü rapor edilmiştir (1, 3, 12, 30).

Yapılan araştırmalarda etkenin çeperinin prizmatik simetri gösterdiği ve çeperinde 12 adet morfolojik kompakt birimin bulunduğu, virion'un ortalama çapının 233 °A, morfolojik birimlerinin ortalama çapının 61 °A, iki birim arasının ise 74 °A olduğu ifade edilmiştir (29).

AEV'nun domuzların polioencephalomyelitis ve insanların poliomyelitis virusuna büyük ölçüde benzerlik gösterdiği kaydedilmiştir (3, 17).

2.2.2. AE Virusunun Biyolojik Özellikleri

AEV suşları arasında serolojik olarak bir fark yoktur, ancak AEV virulans farklılığı nedeniyle doğal (saha suşu) suş ve embriyoya adapte (Van Roekel suşu) suş olarak iki gruba ayrılır (3, 12, 17, 30). Virusun doğal suşları genellikle enterotrop, embriyoya adapte suşları ise nöyrotropur (12, 52).

2.2.2.a. Doğal Suşlar (Saha Suşları)

Doğal suşlar, doğal hastalık olaylarından izole edilen viruslar olup, bu suşların tamamı enterotropiktir. Bu suşların, civcivleri sindirim yolu ile enfekte ettikleri ve civcivlerin dışkı ile etkenleri etrafa yaydıkları bildirilmektedir (52, 60). Doğal suşların bir kısmının nöyrotropik etki gösterdiği, merkezi sinir sisteminde şiddetli lezyonlar oluşturduğu ve bu lezyonların civcivlerde oldukça belirgin klinik semptomlara yol açtığı ifade edilmiştir. Yine bu suşların patojenitelerinin farklı olduğu ve embriyolar için patojen olmadığı kaydedilmiş, ancak bir seri pasajlarla embriyoya adapte edildikten sonra, patojenite gösterdikleri ve yumurtada embriyo ölümleri meydana getirdikleri ifade edilmiştir (3, 30, 52, 60).

2.2.2.b. Embriyoya Adapte Suşlar (Van Roekel Suşu)

Embriyoya adapte suşlar ileri derecede nöyrotropik viruslardır. Doğal suşların aksine bu suşların, sindirim yolu ile enfeksiyon oluşturma şansları oldukça azdır. Ancak her yaştaki hayvanlarda parenteral yolla enfeksiyon oluşturup klinik semptomlar meydana getirebilirler. Yine embriyoya adapte suşların oral yolla enfeksiyon meydana getirebilmesi için dozun çok yüksek olması gerektiği de rapor edilmiştir (3, 30, 52, 55). Embriyoya adapte suşun gastrointestinal kanalda çoğalmasının genelde olanaksız görüldüğü, ancak hafif bir duodenal enfeksiyona yol açabileceği

ifade edilmiştir (37, 38). Bu suşların, duyarlı tavuk embriyolarını enfekte ederek kaslarda distrofi ve hareketlerin azalmasına neden olduğu bildirilmiştir (27).

AEV'nun üretilmesinde diğer viral etkenlerin üretilmesinde olduğu gibi üç canlı sistemden yararlanılır. Bunlar; embriyolu tavuk yumurtaları, doku kültürleri ve duyarlı deney hayvanlarıdır (2, 3, 30, 32, 33). Embriyoya adapte suşların yumurtada üretilmesi için, duyarlı hayvanlardan alınan yumurtaların kullanılmasının gerektiği, yine bu yumurtalardan çıkan civcivlerin de bu amaçla kullanılabileceği bildirilmiştir (30, 48). Enfekte embriyoların beyinde virusun titresi 3 ila 4. günlerde düşük; 6 ila 9. günlerde ise en yüksek düzeye ulaşır (3, 30). Embriyoya adapte suşların embriyoda meydana getirdiği patolojik değişimler diğer suşların etkileri ile benzerlik göstermekle birlikte lezyonların şiddetinde farklılıklar görülebilir (3, 27).

AEV embriyoya değişik yollarla verilebilmektedir. Bunlar arasında yumurta sarısı, allantoik boşluk ve intraoküler yol en fazla kullanılan yollar olup, bunlar içerisinde ise en uygun yol sarı kesedir (3, 10, 27, 30, 56). Virusun üretilmesinde kullanılan doku kültürleri arasında; nöyrogliyal hücre kültürleri, tavuk embriyosu böbrek hücre kültürleri, fibroblastik doku hücre kültürleri ve tavuk pankreatik hücre kültürleri sayılmaktadır (28, 32 - 34).

2.3. Epizootiyoloji

2.3.1. AE'in Doğal ve Deneysel Konakçıları

AEV ile doğal enfeksiyon tavuk, sülün, bıldırcın ve hindilerde bildirilmiştir (15, 21, 24, 35, 61). Doğal enfeksiyonlarda hindi ve sülün'lerin yanı sıra, kekliklerin de serumlarında nötralize edici antikörlerin varlığı bildirilmiş, ancak ispinoz, serçe, sığırcık, karga, ekin kargası,

kumru, güvercin ve ördek gibi kanatlı türlerinde ise nötralize edici antikorların bulunmadığı rapor edilmiştir (30, 61).

DeneySEL enfeksiyonlara (30, 39, 44, 45, 50, 60, 61, 63) civcivler, hindi palazları, ördek palazları, güvercin yavruları, beç tavukları, bıldırcınlar ve sülünlerin duyarlı oldukları kaydedilmiş, ancak enfeksiyonun fare, kobay, tavşan ve maymunlarda güçlükle meydana getirilebildiği vurgulanmıştır (30). Fare ve tavşanlarda virusun intraserebral inokülasyonundan sonra enfeksiyonun oluştuğu ve hastalığın klinik belirtilerinin farelerde gözlenmediği, ancak merkezi sinir sistemindeki histopatolojik lezyonların, her iki hayvanda da açıkça gözleendiği kaydedilmiştir (39, 59).

2.3.2. AE'in Bulaşması

Doğal ve deneySEL enfeksiyonlarda bulaşma direkt veya indirekt yollarla olur (3, 30, 60).

Yumurta tavuklarında kısa süren bir viremi devresinde virusun yumurta yolu ile bulaşmasının önemli olduğu kaydedilmiştir (17). Enfekte anaçların bulunduğu sürülerde, tavukların yumurta ile virus çıkarma (vertikal bulaşma) süreleri ortalama 3-7 haftadır. Yumurta yolu ile bulaşma özellikle civciv enfeksiyonlarında ciddi bir yol olup, enfeksiyonun yeni nesillere taşınmasında önemli bir faktördür (2, 3). Bu yolla enfekte olmuş yumurtalardan elde edilen civcivlerde, ilk 10 gün içinde AE'e özgü klinik belirtiler ortaya çıkar (13).

Bazı kaynaklarda; AE'in genç ve erişkin kanatlılarda gözlenen enterik bir enfeksiyon olduğu belirtilerek, oral yol ile enfekte olmuş genç civcivlerin, virusu gaita ile etrafa saçtığı vurgulanmıştır (2, 13, 17, 30). Yaşlı tavukların, hiç bir klinik belirti göstermeden (gizli enfeksiyon) gaitaları ile virusu dışarı çıkararak etrafı bulaştırdıkları ve bu bulaşık yem

ve suları alan civcivlerin ise enfeksiyonu kolaylıkla aldıkları rapor edilmiştir. Bu yolla virusun alınmasından sonra, enfeksiyonun şekillenebilmesi için en az 10-11 günlük bir sürenin geçmesi gerekir (3, 30). Ancak duyarlı erişkin sürülerin, virusu oral yol ile almalarını takiben, yumurta veriminde azalma, yumurtadan civciv çıkma oranında düşme ve erken embriyonik ölümlerin şekillendiği de vurgulanmıştır (13, 58).

Bazı araştırmacılar enfeksiyonun inkübatörlerde veya civciv çıkışı esnasında bir enfekte gruptan diğerine kontakt yol ile nakledilmediğini belirtirken (51), diğer bir kısım araştırmacılar aynı inkübatörde inkübe edilen iki grubun; virus inoküle edilen grubundan çıkan civcivlerde 1 ila 6. günler arasında klinik belirtilerin ortaya çıktığını, virus inoküle edilmemiş gruptan çıkan civcivlerde ise 10. günden itibaren klinik belirtilerin ortaya çıktığını bildirmişlerdir (13).

Bazı kaynaklarda bulaşmanın solunum sistemi yolu ile de olabileceği ifade edilmiştir (2).

Virus yumurta ve gaita ile bulaşabileceği gibi, hasta hayvanlarla direkt temasta bulunan hayvan bakıcıları ve mekanik araçlarla da bulaşabilir. AE'in deneysel olarak en iyi şekilde intrakranial yol ile meydana getirilebildiği, enfeksiyonun bundan başka intraperitoneal, subkutan, intradermal, intravenöz, intramusküler, intraskiyatik, intraoküler, oral ve intranasal yollarla da oluşturulabileceği bildirilmiştir (3, 30, 60).

2.4. AE'in Patogenezisi

AEV'u tarafından tavuk embriyosu ve civcivlerde oluşturulan hastalığın patogenezisi bir çok araştırmacı tarafından incelenmiştir (7, 8, 11, 13, 14, 22, 36 - 38, 40, 41, 52, 55).

Doğal ya da deneysel enfeksiyonların patogenezisi tam manasıyla açıklanamamıştır. Ancak hastalıkta yaş unsurunun önemli olduğu

belirtilerek, enfeksiyonun genellikle bir günlük iken enfekte edilen civcivlerde ölüm meydana getirdiği, 8 günlük iken enfekte edilen hayvanlarda ise sadece parezisin geliştiği ve hatta iyileştikleri ve yine 28. günden sonra hiçbir klinik belirtinin kalmadığı bildirilmiştir (14). Aynı araştırmacı hastalığa duyarlılıkta, bursektominin yaş rezistansını ortadan kaldırdığını belirtmiş, timektominin ise böyle bir etkisinin olmadığını ifade etmiştir. Bazı kaynaklarda ise (30, 60), kaydedilen bu sonuçların başka yazarlarca da benimsenerek doğruluğunun ispatlandığı ve hastalığa karşı duyarlılıkta yaş dirençliliğinin temelinde humoral bağışıklığın olduğu belirtilmiştir. Yine bir kısım kaynaklarda, genç yaşta AEV ile enfekte olan hayvanlarda vireminin şekillenmesi ile beraber virusun beyine ulaştığı ve hastalığın klinik belirtilerinin geliştiği rapor edilmiştir (14, 30).

AEV'nun embriyoya adapte suşu hariç, genellikle alimenter kanalda çoğaldığı kaydedilmiştir (37). Bu virus ile gerek doğal ve gerekse deneysel enfeksiyonlarda, virusun oral yolla vücuda girmesini takiben bağırsağın mukoza epitel hücrelerinde çoğalarak bir vireminin şekillendiği ve bu vireminin ise 5 gün süreyle devam ettiği belirlenmiştir. Virusun kan yoluyla ilk olarak pankreasa ve bunu takiben karaciğer, böbrek ve dalak ile son olarak merkezi sinir sistemine ulaştığı belirtilmiştir (7, 8, 38). Embriyoya adapte suş ile oral yolla deneysel olarak enfekte edilmiş civcivlerde vireminin oluşmasına rağmen, merkezi sinir sistemi ve pankreasda göze çarpan sınırlı bir organ tropizminin olduğu ve bunun da saha suşu ile sistemik enfeksiyonlara zıt olduğu ifade edilmiştir (30, 37).

Yapılan bir kısım immunofloresan araştırmalarda (7, 8, 36, 38, 40, 59), civcivlerde viral antijenlerin varlığı merkezi sinir sistemi ile bir çok iç organ ve dokularda ortaya konmuştur. Bu antijenlere daha çok merkezi sinir sisteminde, serebellum'un Purkinje hücreleri ile moleküler katında rastlanılmıştır (36, 40, 59). Klinik olarak; 10 günlükten daha küçük iken

enfekte olmuş civcivlerde virusun replike olduğu yerler ise pankreas, alimantar kanalın bütün organlarının musküler katı, karaciğer, kalp, böbrek, dalak ve iskelet kaslarıdır. Yine 10 ila 30 günlük iken klinik belirti gösteren civcivlerde ise viral antijenler merkezi sinir sistemine ve pankreasa yöneldiği, daha az oranda kalp, böbrek, karaciğer ve dalakta replike oldukları rapor edilmiştir (8, 14, 30, 38).

Duyarlı tavuk embriyosuna, inkübasyonun 7. gününde virusun yumurtaya adapte suşunun inoküle edilmesini takiben yapılan immunofloresan araştırmada; spesifik reaksiyonların ilk olarak inokülasyonun 5. gününde beyin dokusunda, 6. gününde kalp, bezli mide, musküler mide, duodenum ve pankreasda olduğu belirlenmiştir. İnokülasyonun 7. gününde kaslarda (özellikle but kasları), 8. ve daha sonraki günlerde ise akciğer ve böbreklerde viral antijenlerin varlığı belirtilmiş, bursa Fabricius ve dalakta ise gözlenmediği vurgulanmıştır (7).

Hastalığın inkübasyon süresi; kontakt ya da oral yolla şekillenmiş enfeksiyonlarda, civcivlerde etkenin vücuda girmesinden 11 gün, embriyonal dönemde enfekte olmuş civcivlerde ise inkübasyon periyodunun 1 ila 7 gün olduğu rapor edilmiştir (1, 3, 13).

AEV'nun 7 günlük civcivlere intraserebral yol ile inoküle edilmesini takiben, klinik belirtilerin 7 ila 10. günler arasında ortaya çıktığı (39, 40), 1 günlük civcivlere yine intraserebral yol ile inokülasyondan sonra 6. günde klinik belirtilerin gözleendiği (50) ve 15 günlük iken aynı yolla enfekte edilen civcivlerde ise klinik belirtilerin 14. günde ortaya çıktığı rapor edilmiştir (58).

Bir araştırmacı (39), inkübasyon süresinin, deneysel enfeksiyonlarda, virusun vücuda inoküle edilmiş yoluna göre değiştiğini belirterek; intraperitoneal olarak inoküle edilen civcivlerde klinik belirtilerin inokülasyonun 10 ila 19. günleri arasında, intramusküler olarak inoküle

edilen civcivlerde ise 12 ila 22. günler arasında ortaya çıktığını kaydetmiştir. Yine AEV'nun saha suşunun 1 günlük duyarlı civcivlere peros yolla verilmesinden sonra klinik belirtilerin 12 ila 17. günler arasında gözlenmeye başlandığı, ancak 24. güne kadarki bölümde gözden kaybolduğu bildirilmiştir (11).

Doğal enfeksiyonlarda morbidite oranı, erişkin sürülerde pek belirgin olmazken, genç nesillerde belirgindir (30, 60). Genelde bu oranın %10-20 arasında değiştiği (1, 60), fakat enfekte sürülerden gelen civcivlerin oluşturduğu sürülerde artış göstererek %40-60 olduğu (1, 3, 30), immun sürülerden elde edilen nesillerde ise bu oranın oldukça düşük olduğu vurgulanmıştır (3). Hastalığın mortalite oranı genelde %10-25 arasında değişir (2, 3, 24, 30, 60), ancak bu oran, stres faktörlerinin ve diğer hazırlayıcı nedenlerin fazla olduğu kümeslerde, gençler arasında, %50-60' a kadar çıkabilir (2, 17, 60). Bu oranın, yetiştirilen nesillerin bağışık sürülerden köken alması halinde oldukça düştüğü, 6 haftalıktan daha yaşlı civcivlerin enfekte olmaları halinde gelişmenin gerilediği, ancak ölümün görülmediği vurgulanmıştır (30).

2.5. AE'in Klinik Semptomları

Hastalıkta genç kanatlılarda kendine özgü tipik klinik belirtilerle karakterize sinirsel semptomlar görüldüğü kaydedilmiştir (1, 3, 30, 46, 59). AE'in nervöz belirtileri civcivler yumurtadan çıktıktan sonra görülebilir, ancak bu belirtilerin 1-2 haftalık civcivlerde ortaya çıktığı ve 6 haftalıktan sonra ise oldukça ender görüldüğü belirtilmiştir (1, 24, 30, 46, 60).

AE'in bazı suşlarının (Van Roekel suşu'nda olduğu gibi) embriyonun yumurtadan çıkmasından önce felç (embriyoda hareketsizlik ve sadece kalp hareketi), cücelik (dwarfism), embriyonun baştan başa hemorajik bir görünümde olması ve ayaklar ile bacaklarda çarpıklık ve parmaklarda

kıvrılmalar gibi belirtilere yol açtığı kaydedilmiştir (7, 15, 24, 25, 27, 45, 56, 57, 63). Hindiler üzerinde yapılan bir araştırmada; inokülasyondan 96 saat sonra bir kısım embriyoların öldüğü, bütün embriyolarda şiddetli cüceleşme ve musküler distrofiler ile felç durumlarının şekillendiği (15), yine tavuk embriyosunda yapılan bir çalışmada ilk klinik belirtinin inokülasyonun 8. gününde, embriyoların cüceleşmesi ile musküler distrofi şeklinde ortaya çıktığı görülmüştür (7).

Etkilenen enfekte civcivlerde görülen ilk klinik belirti gözlerdeki hafif bir matlık ile donukluktur. Bu belirtiyi kasların inkoordinasyonuna bağlı olarak şekillenen ilerleyici bir ataksi takip eder. Ayrıca civcivlerde, durgunluk, tüylerde kabarma ve çevrelerine karşı ilgisizlik tablosu da görülür. Civcivlerde ataksi çok belirgin ve sürekli geliştiği için, bu durum hafif bir takatsızlık ve dengesizlik ile kendini belli eder. Ancak erken safhalarda hayvanların yürümeyi tamamen redederek bacakları üzerine çöktükleri, rahatsız edildiklerinde kendi etraflarında döndükleri ve hatta eklem ve dizleri üzerinde yürümeye çalıştıkları rapor edilmiştir (1 - 3, 17, 20, 24, 30, 44 - 46, 50, 54, 55). AE'in civcivlerdeki patogenezi üzerine yapılan bir araştırmada hastalığın klinik belirtilerinin inokülasyonun 13. gününde ve inkoordinasyon bozukluğu ya da tremor şeklinde olduğu görülmüştür (8).

Civcivlerde baş ve boyunun tremoru hastalık için tipik olup, bazen tüm vücutta da gözlenebilir, ancak bazı salgınlarda tremorun gözlenmediği ya da sürünün birkaç ferdinde gözlendiği ifade edilir (1, 17, 60). Yapılan bir çalışmada enfekte palazların %5-10'unda baş ve sıklıkla da bütün vücutta tremorun olduğu saptanmıştır (24). Bazı kaynaklar ataksi belirtilerinin genelde olduğunu, ancak daima tremordan önce ortaya çıkmadığını ve hatta bazen de sadece tremor belirtilerinin saptandığını da rapor etmişlerdir (3, 30, 60).

Klinik olarak civcivlerde şekillenmiş olan ataksi ve tremor sonucu ortaya çıkan, takatsizlik ve aşırı yorgunluktan koma ve ölümün oluştuğu, şekillenen bu ölüm olaylarının ise hayvanların yeme, suya ulaşamamaları ve diğer hayvanların ayakları altında kalarak ezilmeleri sonucu olduğu vurgulanmıştır (1, 2, 17, 30, 60).

Hastalığın klinik belirtilerini belirgin olarak gösteren bazı civcivlerin yaşamlarına devam ederek erginliğe erişebildikleri ve bazen de bu belirtilerin tamamen ortadan kaybolduğu bildirilmiştir (1, 30, 46, 60). Gerek doğal ve gerekse deneysel enfeksiyonlardan sonra sağ kalarak iyileşen kanatlılarda virusu nötralize edici antikorların varlığı saptanmıştır (42). Deneysel olarak yapılan bir araştırmada; civcivlerde klinik belirtilerin inokülasyonun 6. gününde ortaya çıktığı ve 8. günde ataksinin şekillendiği, bununla beraber 15. günde belirtilerin yavaşça kaybolduğu ve 17. günde ise 2 civcivin yürüyebildiği gözlenmiştir (22). Ancak hastalıktan sağ olarak kurtulan bazı kanatlılarda tortikollis'in devam ettiği (44, 54) ve ayrıca gözlerin bir ya da her ikisinde körlüğün geliştiği rapor edilmiştir (1, 5, 9). Gözlerde saptanan bu durumda ise, genellikle göz pupillasının gri bir renkte olduğu (katarakt), pupillaların ışığa duyarlılıklarının oldukça zayıf olduğu ve irisin renginin oldukça açık olduğu kaydedilmiştir (1, 5, 9, 18, 59). Laboratuvarda yetiştirilen ve doğal olarak enfekte olmuş 83 civcivden, 8 aylık bir hastalık periyodu sonrasında 24 civcivin yaşadığı; bu civcivlerin 7'sinde gözlerin bir ya da her ikisinde körlüğün oluştuğu rapor edilmiştir (30). Hastalığı geçiren sürülerde gözde katarakt ve körlük oranının %4'e ulaşabildiği vurgulanmıştır (18).

Ergin ve yumurtlayan hayvanlarda klinik belirtiler göze çarpar bir düzeyde olmayıp, genellikle subklinik seyreder ve sonuçta yumurta üretimi ile yumurtalardan civciv çıkma oranında düşmeler görülür (1, 58).

Yumurta veriminde 3-4 hafta süre ile %5-15 arasında değişen bir düşüşün saptandığı, ancak ağır seyreden hastalık durumlarında bunun %75'e kadar çıktığı gözlenmiştir (1 - 3, 58).

2.6. Doğal ve Deneysel AE Olaylarında MSS ve Diğer Organlarda Gözlenen Morfolojik Lezyonlar

2.6.1. Makroskobik Lezyonlar

Bir kısım araştırmacılar civcivlerde AE'in karakteristik makroskobik lezyonlarının olmadığını belirtmişlerdir (1 - 3, 17, 22, 40, 41, 50). Bununla beraber lezyonların sadece mikroskobik olduğu bildirilmiştir (60). Ancak bazı civciv embriyoları ile civcivlerde, hidrosefalusun şekillendiğı (40, 41, 44, 45, 59, 63), ayrıca enfekte hayvanların bazı vücut kaslarında, özellikle bacak kaslarında, yaygın bir atrofi ile ayak parmaklarında kıvrılma ya da bükülmelerin gözlendiğı rapor edilmiştir (7, 15, 24, 32, 33, 63). Piliçler üzerinde yapılan bir araştırmada merkezi sinir sisteminde, özellikle hemisferlerin korteksinde 1-3 mm çapında ve 1-4 mm derinliğinde, boz-beyaz renkte, yumuşak, içi berrak sıvıyla dolu boşlukların belirlendiğı kaydedilmiştir (54).

Bazı kaynaklar hastalıkta makroskobik olarak; taşlığın (musküler mide) musküler katında lenfosit infiltrasyonundan dolayı beyaz renkte görünen odakların saptandığını kaydetmişlerdir (30, 59). Söz konusu bu makroskobik lezyonların görülebilen ender değişiklikler olduğu ve enfekte olmuş ergin hayvanlarda bundan başka gözle görülebilecek lezyonların bulunmadığı belirtilmiştir (8, 20, 30).

2.6.2. Mikroskopik Lezyonlar

AE'te histopatolojik lezyonlar tipik olup, bunlar merkezi sinir sisteminde ve bazı iç organlarda şekillenir (1, 20, 30, 44, 50, 59). Perifer sinirlerde mikroskopik bir lezyona rastlanmaz (20, 30, 50).

Merkezi sinir sistemindeki lezyonlar nöyon dejenerasyonu, perivasküler mononükleer hücre infiltrasyonları ve glia hücre infiltrasyonlarından (gliosis) ibaret diffuz veya fokal odaklar halinde nonprulent akut bir encephalomyelitis ve dorsal kök ganglionlarında saptanan ganglionitistir (1, 3, 11, 17, 22, 24, 30, 47, 48, 60).

Hastalığın karakteristik özelliği olan nöyon dejenerasyonu, merkezi sinir sisteminin hemen hemen tümünde görülmekle birlikte, özellikle serebellum'un Purkinje hücrelerinde, medulla oblongata'da ve medulla spinalis'in servikal ve lumbo-sakral bölgesinin anterior kesimi ile spinal ganglionlarda gözleendiği bildirilmiştir (1, 20, 22, 25, 48, 50, 55, 59, 60). Ayrıca bu lezyonun mezensefalonda ve nadiren de diensefalonda da saptandığı rapor edilmiştir (20, 27, 59). Hastalıkta erken dönemde görülebilecek tek lezyon olan nöyon dejenerasyonu (46), sinir hücre gövdesinin (perikaryon) şişmesi, yuvarlaklaşması ve hücrenin köşelerini kaybetmesi ile kendini belli eder. Ayrıca, hücre çekirdeği şişer ve bunun neticesinde ise Nissl cisimcikleri perikaryonun periferine doğru bir hale gibi ayrılarak sentral kromatolizis'in oluşumunu sağlar (25, 46, 54). Hastalığın daha ileriki dönemlerinde ise, sentral kromatolizis'e uğramış bu nöyonların, periferde toplanmış Nissl granüllerinin gözden kaybolduğu, hücrenin çekirdeğini kaybederek homojen pembe hayali bir görüntüden ibaret olduğu ve zamanla da hücrenin tümünün eriyerek gözden kaybolduğu saptanan mikroskopik değişimlerdir (25, 46).

Bazı kaynaklar, dejenere olmuş nöyonların tamamen düzelebileceğini ya da eriyip tamamen gözden silineceğini not etmişlerdir (22, 46, 50).

Bununla beraber, yapılan bir çalışmada, düzelen nöyronlarda intranükleer eozinofilik inklüzyon cisimciklerinin şekillendiğini ve bunun ise, iyileşen nöyronların bir özelliği olarak değerlendirilmesi gerektiği kaydedilmiştir (46).

Çoğu araştırmacı tarafından AE için patognomonik olarak kabul edilen (12, 20, 25, 50), beyin kökü ve özellikle de medulla oblongata nöyronlarının sentral kromatolizis'i, diğer bir araştırmacı tarafından ise, bunun patognomonik bir bulgu olarak değil, ancak hastalığın teşhisinde önemli bir kriter olarak değerlendirilmesi gerektiği vurgulanmıştır (47).

Purkinje hücrelerinin dejenerasyonunun ender olarak şekillenen bir lezyon olduğu belirtilmiş (25, 46, 55) ve dejenerasyona uğrayan bu hücrelerin küçüldüğü, çabucak eriyerek gözden silindiği ve nekroze olan bu hücrelerin yerini glia hücre infiltrasyonlarının aldığı kaydedilmiştir (22, 58). Ayrıca sözü edilen bu lezyonlarla birlikte Purkinje hücre katında (stratum gangliozum) ödem de gözlenen bulgular arasındadır (46). Ultrastrüktürel olarak yapılan bir çalışmada (14), söz konusu ödemin genişlemiş perivasküler alanlar ile nöyropil'deki alanlarda bulunan astrositlerin şişmesi ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir. Hastalıkta satellitozis ve nöyronofaji'nin, enfeksiyonun erken dönemlerinde pek görülmeyen, ancak hastalığın ileri dönemlerinde görülebilecek lezyonlar olduğu vurgulanmıştır (46, 55).

Medulla spinalis ile spinal ganglion'lardaki lezyonların, beyinde şekillenmiş olan lezyonlarla benzer özellikte olduğu belirtilmiş ve medulla spinalis'in büyük motor sinir hücrelerinde gözlenen dejenerasyonun, AE için potognomonik bir bulgu olarak değerlendirildiği ifade edilmiştir (20, 25, 30, 50).

Merkezi sinir sisteminde AE'in önemli bir histolojik özelliği olarak kaydedilen gliozis, hastalığın teşhisinde önemli bir kriterdir (20, 46, 59).

Glia infiltrasyonları özellikle beyin kökü ile medulla spinalis'in substansia grisea'sında ve ayrıca serebellum'un moleküler katı ile stratum gangliozum tabakasında gözlendiği belirtilmiş, ancak stratum gangliozum katmanındaki bu infiltrasyonlarla birlikte bazı astositik hücrelerin de gözlendiği ve bunun hastalık için oldukça karakteristik bir özellik olduğu rapor edilmiştir (12, 20, 30, 40, 46 - 48, 50, 59). Üçgen şekilli ya da lobut benzeri projeksiyon formundaki bu hücreler; serebellumun stratum gangliozum katından, moleküler katına doğru bir yayılım gösterdiği ve bunun ise "Glia Strauchwerke" reaksiyonu olarak tanımlandığı ifade edilmiştir (46, 48).

Mikroskobik olarak hastalıkta gözlenen lezyonlardan biri de vasküler ve perivasküler reaksiyonlardır (20, 22, 24, 40, 41, 44, 46, 48, 58, 59). Bir kısım kaynaklar, kan damarlarında, endotelial hiperplazilerin şekillendiğini belirtmiş (20, 44), ancak bazı kaynaklar damarlardaki bu lezyonların endotelial hücrelerin şişkinliğinden ibaret olduğunu bildirerek bunu "Verquellung" olarak adlandırmışlardır (46). Bu durum, bir kısım araştırmacı tarafından da saptanmış ve lezyon vaskülitis olarak tanımlanmıştır (40). Hastalıkta, lenfoblast, lenfosit ve plazma hücrelerinden ibaret perivasküler hücre infiltrasyonları, özellikle serebrum'un parenşiması ve serebellum'un substansia grisea'sının stratum gangliozum katı ve nadiren de substansia alba'da görüldüğü kaydedilmiştir (14, 20, 24, 40, 41, 46, 48, 50, 60). Bu hücre infiltrasyonlarına medulla spinaliste de rastlanılabileceği vurgulanmıştır (20, 48, 50, 59).

AE'de granülosit hücre infiltrasyonlarına hiç bir suretle rastlanılmadığı, meningitis'in ise ya hafif şiddette gözlendiği (46), ya da hiç gözlenmediği belirtilmiştir (58).

Enfeksiyonda yaşlı tavukların çeşitli iç organlarında lenfoid odaklar halinde mononükleer hücre infiltrasyonlarının şekillendiği bildirilmiş olup (1, 3, 30, 47, 57, 60), bu infiltrasyonların, merkezi sinir sistemi bulgularına

göre daha az şiddette ve yaygınlıkta olduğu kaydedilmiştir (50, 57). Çeşitli kaynaklarda (1, 20, 30, 48), hastalık için patognomonik öneme sahip olduğu belirtilen bu hücre infiltrasyonları, başta pankreas, bezli midenin musküler katı (1, 12, 20, 24, 30, 47, 48, 50, 54, 55, 60) ile kassel midenin musküler katı (12, 47, 50), olmak üzere karaciğer, kalp, böbrek, dalak, akciğer ve bağırsaklarda gözlenmiştir (12, 24, 47, 50, 54, 55).

Hastalıkta mikroskobik olarak musküler değişimlerden de söz edilmiş olup, miyofibrillerin yer yer kaybolduğu ve kas liflerinin şişkin bir görünümü ile ödemli liflerin birbirinden ayrıldığı belirtilmiştir. Ayrıca düzgün yapısını kaybeden kas ipliklerinin sarkolemmal proliferasyona uğradığı ve bu liflerin arasında mononükleer tarzda hücre infiltrasyonları ve hemorajilerin şekillendiği rapor edilmiştir (27, 45, 63).

2.7. AE'in Tanı ve Ayırıcı Tanısı

AE'in teşhisi her zaman kolay değildir (23). Enfeksiyon klinik ve patomorfolojik bulgular göz önünde bulundurularak teşhis edilir, ancak kesin tanı için çeşitli laboratuvar testlerine gereksinim duyulmaktadır. Bunlar virus izolasyonu ve identifikasyonu, serolojik testler, immunofloresan yöntemler ile hayvan deneylerinden ibarettir (1, 3, 14, 17, 23, 30, 59, 60).

Otopside hastalıklı organlarda makroskobik patolojik değişimler pek gözlenmez (1, 3, 17, 22, 40, 41, 50). O nedenle hastalıkta klinik semptomların histopatolojik bulgularla beraber değerlendirilmesi gerektiği kaydedilmiştir (2, 3, 40).

Hastalık diğer birçok infeksiyöz, vitamin ve mineral madde eksikliklerinden ileri gelen hastalıklarla karışabilir. Bunlar Newcastle, Marek, Gumboro, Salmonellozis, Pastörellozis, Kolibasillozis, Aspergillozis,

A-avitaminozis, Vitamin B2, D ve E yetersizliği, Nefritis ile çeşitli zehirlenmelerdir (1 - 3, 30, 59, 60).

2.8. AE'in Tedavi, Koruma ve Kotrolü

Hastalık viral bir enfeksiyon olduğu için ilaçla tedavisi söz konusu olmayıp, hastalıktan korunma amacı ile hastalığın görüldüğu sürülerde, klinik semptomları gösteren hayvanların imha edilmesi ve sağlıklı olanların ise uygun bakım ve beslenmeye tabii tutulması gerektiği vurgulanmıştır. Ayrıca koruyucu amaçla canlı ve inaktif aşıların kullanılması gerektiği de kaydedilmiştir (1 - 3, 30).



3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal :

3.1.1. Virus Suşu : Çalışmada, Manisa Tavuk Hastalıkları Araştırma ve Aşı Üretim Enstitüsü Müdürlüğü'nden temin edilen AEV (embriyoya adapte) Van Roekel suşu kullanıldı. Beyin homojenatı stok virusun titresi E₁D₅₀ 10⁻³ olarak belirlendi.

3.1.2. Yumurtalar : Araştırmada, 222 adedi Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Kars İl Müdürlüğü, Kaz Üretim ve Yetiştirme İstasyonu'ndan, 132 adedi de Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nden olmak üzere, toplam 354 adet kaz yumurtası kullanıldı. Yumurtaların temin edildiği bu damızlık sürülerde o zamana kadar bir enfeksiyonun görülmediği ve herhangi bir aşılamanın yapılmadığı yetkililerce ifade edildi.

3.2. Metot :

Denemede kullanılan yumurtalar kuluçka makinasına konmadan önce temizlendi. Temizlik için; sıcaklığı yumurtanın sıcaklığından az fazla olacak şekilde ayarlanmış (43 °C) ılık su kullanıldı. Yumurtalar su içerisinde 30 saniye bekletilip gerekli temizliği yapıldıktan sonra, kurularak 30 saniye de %2'lik formalin solüsyonu içerisine bırakıldı ve tepsilere dizilerek havada kuruması sağlandı. Ayrıca araştırmada kullanılan kuluçka makinasının ve yumurtaların dezenfeksiyonu için, her 1m³ hacim için, 35 cc %40'lık formaldehit, 17.5 gr potasyum permanganat ve 25 cc çeşme suyu karıştırılarak bir saat süreyle fumigasyon işlemine tabi tutuldu. Daha sonra kuluçka makinası bir saat süreyle havalandırıldı ve normal çalışma sistemine geçildi (19). Yumurtaların kuluçka makinasındaki inkübasyon işlemleri tablo-1'de gösterilmiştir.

Tablo-1: Yumurtaların kuluçka makinasındaki inkübasyon işlemleri.

Gün	Sıcaklık °C	Rutubet %	Açıklamalar
1	37.7	86 - 88	-----
2	37.7	86 - 88	-----
3	37.7	86 - 88	-----
4	37.7	86 - 88	-----
5	37.7	86 - 88	Su püskürtme + soğutma
6	37.6	85	Su püskürtme + soğutma
7	37.6	85	Su püskürtme + soğutma
8	37.6	85	Su püskürtme + soğutma
9	37.6	85	Su püskürtme + soğutma
10	37.6	85	Su püskürtme + soğutma
11	37.6	85	Su püskürtme + soğutma
12	37.5	85	Kontrol + Virus İnok.
13	37.5	85	Su püskürtme + soğutma
14	37.5	85	Su püskürtme + soğutma
15	37.5	85	Su püskürtme + soğutma
16	37.5	85	Su püskürtme + soğutma
17	37.5	85	Su püskürtme + soğutma
18	37.5	85	Su püskürtme + soğutma
19	37.5	85	Su püskürtme + soğutma
20	37.5	85	Su püskürtme + soğutma
21	37.5	85	Su püskürtme + soğutma
22	37.5	85	Su püskürtme + soğutma
23	37.5	85	Su püskürtme + soğutma
24	37.5	85	Su püskürtme + soğutma
25	37.2	85	Su püskürtme + soğutma
26	37.2	85	Su püskürtme + soğutma
27	37.2	85	Su püskürtme + soğutma
28	37.2	95	Su püskürtme + soğutma

Çalışma, aynı koşullarda iki kez tekrarlandı. Yumurtalar, kuluçkanın birinci gününden başlayarak 28. güne kadar günde altı defa çevrildi. İnkübasyonun on ikinci gününde yumurtaların embriyo canlılık kontrolü yapıldı. Bu kontrol sonunda her iki denemede kullanılan toplam 354 adet kaz yumurtasının 180 tanesinin embriyolu olduğu saptandı. Embriyolu yumurtaların 125 adedi enfekte (Enfekte Sarı Kese, yedi grup olarak), 55 adedi de kontrol grubu olarak ikiye ayrıldı. Enfekte grup yumurtalar ile kontrol grubu yumurtalar kuluçka makinasının ayrı bölümlerine yerleştirildikten sonra, enfekte grubu oluşturan 125 adet embriyolu yumurtaya inkübasyonun on ikinci gününde, titresi EID₅₀ 10⁻³ olarak belirlenen AEV Van Roekel suşu, 1/10 oranında Phosphate Buffered Saline

(PBS) ile sulandırılarak 0.1 ml dozunda sarıkese yoluyla inoküle edildi. Aynı zamanda 1.000.000 İÜ Penisilin G ve Streptomisin karışımı da 1/10 oranında sulandırılan virusa ilave edildi.

İnokülasyondan sonra (12. kuluçka günü) her gün, günde iki kez, aynı saatlerde embriyoların karanlık odada canlılık kontrolleri yapıldı. İnokülasyonun ilk yetmiş iki saati içinde (12,13,14. kuluçka günleri) meydana gelen ölümler (8 adet) spesifik olmayan etkilere bağlanarak değerlendirmelerin dışında tutuldu. Çalışmada kuluçkaya bırakılan yumurta sayısı, embriyolu yumurta sayısı, inokülasyon yapılan embriyo sayısı ile kontrol grubu embriyo sayısı ve ilk yetmiş iki saat içerisinde öldüğü tespit edilerek değerlendirme dışı bırakılan embriyoların sayısı tablo-2'de gösterilmiştir.

Tablo-2: Çalışmada kuluçkaya bırakılan yumurta sayısı ve embriyolu yumurta sayısı ile inokülasyon yapılan embriyo sayısı, kontrol grubu embriyo sayısı ve değerlendirme dışı bırakılan embriyo sayısı.

Deneme No	Kuluçkaya Bır.Yum. Say.	Embriyolu Yum. Say.	İnok. Yap. Emb. Say.	Kont. Grub. Emb. Say.	Değ. Dış. Bır. Emb. Say.
I. Deneme	222	83	55	28	1
II. Deneme	132	97	70	27	7
Toplam	354	180	125	55	8

İnokülasyonun dördüncü gününden (15. kuluçka günü) başlayarak inkübasyonun sonuna kadar (28. kuluçka günü) hergün aynı saatlerde enfekte grup embriyolardan ölenler ile birlikte belirli sayıda enfekte ve kontrol grubu yumurta açıldı.

Onbeşinci kuluçka gününden denemenin sonuna kadar, enfekte ve kontrol grubu yumurtalardan çıkarılan embriyoların vücut ağırlığı tartıldı

ve but uzunluğu (gövde) ile but genişliği (kalça) ise kompas yardımı ile ölçüldü. Embriyoların but uzunluğu, kompasın sıfır noktası foramen oksipitale magna, diğer ucu da kuyruk başlangıç noktasına gelecek şekilde ölçüldü. But genişlikleri ise iki kalça eklemi arasındaki mesafenin kompasın iki ucu arasına getirilmesi suretiyle ölçüldü. Kontrol grubu ile enfekte grup arasındaki ikili karşılaştırmada, istatistiksel farklılıkların ortaya konulabilmesi için, ölçülerek saptanan verilerin ortalama değeri (X) ve standart sapmaları (Ss) hesaplanarak T-testi uygulandı (53).

İnkübasyonun 15. gününden başlayarak, hergün günlük olarak, 28. kuluçka gününe kadar, gerek ölü ve gerekse canlı olduğu tespit edilerek yumurta kabuğu kırılıp çıkarılan enfekte embriyolar ile kontrol grubu embriyoların sistemik nekropsileri yapıldı. Nekropsileri yapılan embriyolardan histopatolojik muayeneler için öncelikle beyin, beyincik, medulla spinalis (servikal, thorakal ve lumbo-sakral), bezli mide, musküler mide ve pankreas olmak üzere akciğer, kalp kası, karaciğer, böbrek, dalak, bursa Fabricius, göğüs (m. rhombodeus, m. teres major, m. latissimus dorsi), but (m. tensor fascia lata, m. sartorius, m. biceps femoris, m. semimembraneus, m. semitendinosus) bölgesi kasları, gözler ve korioallantoik membrandan alınan doku örnekleri %10'luk nötral formalin solüsyonunda tespit edildi. Bilinen rutin klasik işlemlerden geçirildikten sonra parafin blokları hazırlandı. Bu bloklar 5 mikrona ayarlanmış mikrotomda kesilip hematoxylin-eosin (H-E) ve gerektiğinde beyin, beyincik ve medulla spinalisdeki demyelinizasyon bölgelerini ortaya koymak için Woelcke ve nöyronlardaki değışikliklerle ilgili olarak Nissl granüllerini ortaya koymak amacıyla Einarson metoduna göre boyanarak ışık mikroskopunda incelendi (31). Mikrobiyolojik muayene için, korioallantoik sıvı, karaciğer, dalak, akciğer ve böbreklerden steril şartlarda alınan doku örneklerinden, kanlı agar ve kıymalı buyyona ekimler yapıldı.

4. BULGULAR

Çalışmada, ölçüm ve tartım sonuçları ile makroskobik ve mikroskobik bulgular iki ayrı deneme sonuçlarının birlikte değerlendirilmesi ile elde edildi. Kontrol grubu embriyolar ile enfekte grup embriyoların farklı günlerdeki vücut ağırlıkları, but genişlikleri ve but uzunluklarının ortalama değerleri (x) ve standart sapmaları (ss) ile gruplar arasındaki önemlilik durumu (t) tablo-4-6'da gösterilmiş ve yine kontrol grubu embriyolar ile enfekte grup embriyoların vücut ağırlıkları, but genişlikleri ve but uzunlukları ile kuluçka günleri arasındaki ilişkiler ise sırasıyla grafik-1-3'de sunulmuştur.

Tablo-3: Enfekte grup embriyolar ile kontrol grubu embriyoların ölü, canlı, otoliz, felç ve hareketli embriyo sayılarının gruplara göre dağılımı.

GRUPLAR		1. DENEME						2. DENEME					
		Emb.S	Ölü	Canlı	Otoliz	Felç	Har.*	Emb.S	Ölü	Canlı	Otoliz	Felç	Har.*
I. Grup (15-16.Gün)	Enf.	7	3	4	0	0	4	8	2	6	0	1	5
	Kont.	4	0	4	0	0	4	4	0	4	0	0	4
II. Grup (17-18.Gün)	Enf.	6	2	4	0	1	3	9	3	6	0	2	4
	Kont.	4	0	4	0	0	4	4	0	4	0	0	4
III. Grup (19-20.Gün)	Enf.	7	3	4	1	2	2	10	4	6	1	1	5
	Kont.	4	0	4	0	0	4	4	0	4	0	0	4
IV. Grup (21-22.Gün)	Enf.	7	3	4	0	1	3	10	4	6	2	2	4
	Kont.	4	0	4	0	0	4	4	0	4	0	0	4
V. Grup (23-24.Gün)	Enf.	8	4	4	0	3	1	9	3	6	1	4	2
	Kont.	4	0	4	0	0	4	4	0	4	0	0	4
VI. Grup (25-26.Gün)	Enf.	8	4	4	0	2	2	7	1	6	0	4	2
	Kont.	4	0	4	0	0	4	4	0	4	0	0	4
VII. Grup (27-28.Gün)	Enf.	11	2	9	0	3	6	10	2	8	0	4	4
	Kont.	4	0	4	0	0	4	3	0	3	0	0	3
Değ.Dışı Bir Emb. Say.	Enf.	1**	-	-	-	-	-	7**	-	-	-	-	-
	Kont.	0	-	-	-	-	-	0	-	-	-	-	-
TOPLAM	Enf.	55	21	33	1	12	21	70	19	44	4	18	26
	Kont.	28	0	28	0	0	28	27	0	27	0	0	27

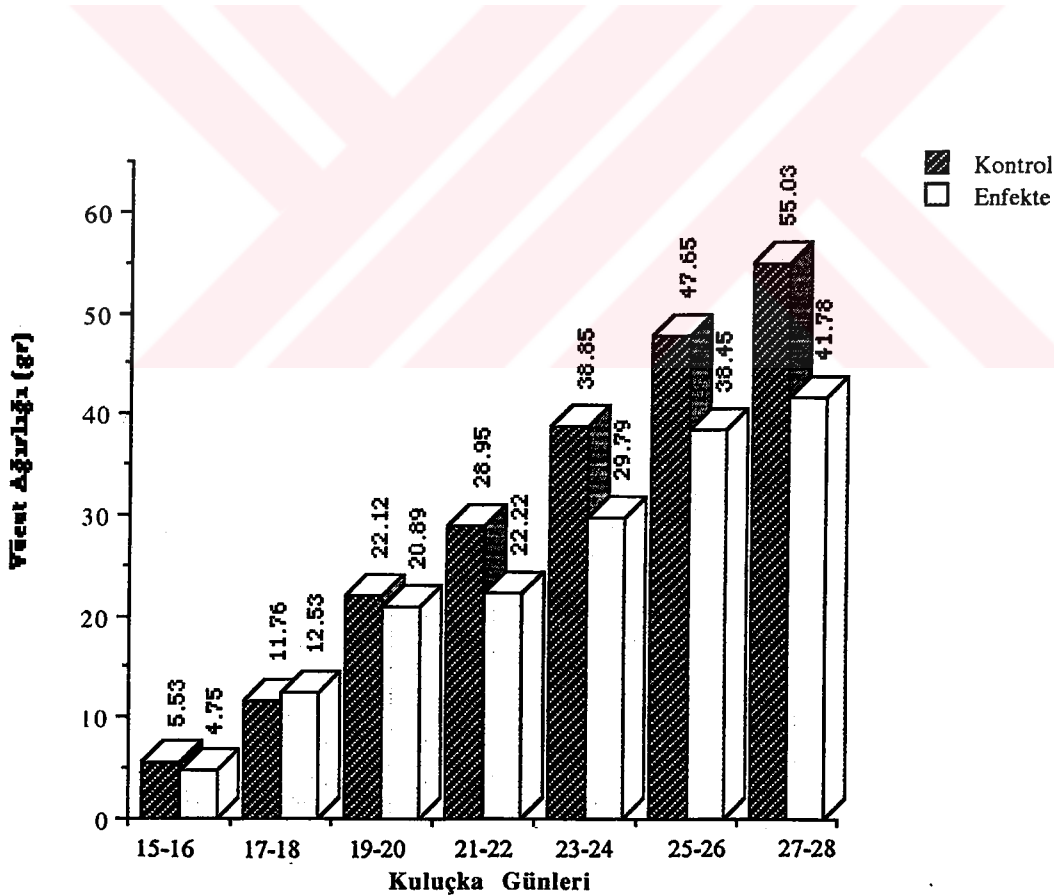
* Hareketli embriyo sayısı.

** 12,13 ve 14. kuluçka günlerindeki ölümlerin spesifik olmayan etkilere bağlanarak şekillenmiş olması dolayısıyla değerlendirme dışı bırakıldı.

Tablo-4: Kontrol grubu embriyolar ile enfekte grup embriyoların farklı günlerdeki vücut ağırlıklarının ortalama değerleri ve standart sapmaları ile gruplar arasındaki önemlilik durumu.

GRUPLAR (GÜNLER)	Kontrol Grubu		Enfekte Grubu		t Değerleri
	X	S s	X	S s	
I. Grup (15-16.Gün)	5.53	0.874	4.75	0.646	0.978 ⁻
II. Grup (17-18.Gün)	11.76	0.738	12.53	1.055	0.968 ⁻
III. Grup (19-20.Gün)	22.12	1.191	20.89	1.413	1.095 ⁻
IV. Grup (21-22.Gün)	28.95	2.611	22.22	1.997	3.734 ^{**}
V. Grup (23-24.Gün)	38.85	1.218	29.79	1.116	13.386 ^{***}
VI. Grup (25-26.Gün)	47.65	2.744	38.45	1.384	6.174 ^{***}
VII. Grup (27-28.Gün)	55.03	2.805	41.78	2.083	8.856 ^{***}

∴ p > 0.05, *: p < 0.05, **: p < 0.01, ***: p < 0.001

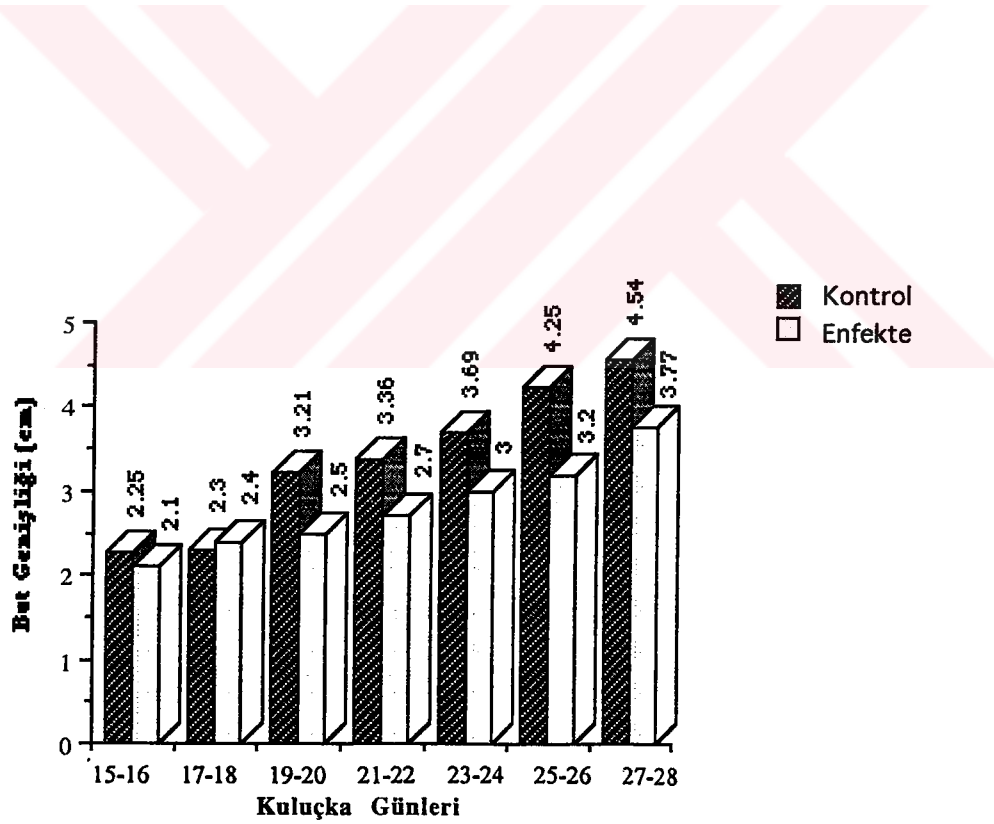


Grafik-1: Enfekte ve kontrol grubu embriyoların vücut ağırlıkları ile kuluçka günleri arasındaki ilişki.

Tablo-5: Kontrol grubu embriyolar ile enfekte grup embriyoların farklı günlerdeki but genişliklerinin ortalama değerleri ve standart sapmaları ile gruplar arasındaki önemlilik durumu.

GRUPLAR (GÜNLER)	Kontrol Grubu		Enfekte Grubu		t Değerleri
	X	S s	X	S s	
I. Grup (15-16.Gün)	2.25	0.185	2.10	0.110	0.917 ⁻
II. Grup (17-18.Gün)	2.30	0.031	2.40	0.024	0.202 ⁻
III. Grup (19-20.Gün)	3.21	0.052	2.50	0.180	4.243 ^{**}
IV. Grup (21-22.Gün)	3.36	0.103	2.70	0.144	5.791 ^{***}
V. Grup (23-24.Gün)	3.69	0.110	3.00	0.078	9.667 ^{***}
VI. Grup (25-26.Gün)	4.25	0.155	3.20	0.095	8.372 ^{***}
VII. Grup (27-28.Gün)	4.54	0.024	3.77	0.151	23.003 ^{***}

-: $p > 0.05$, *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$

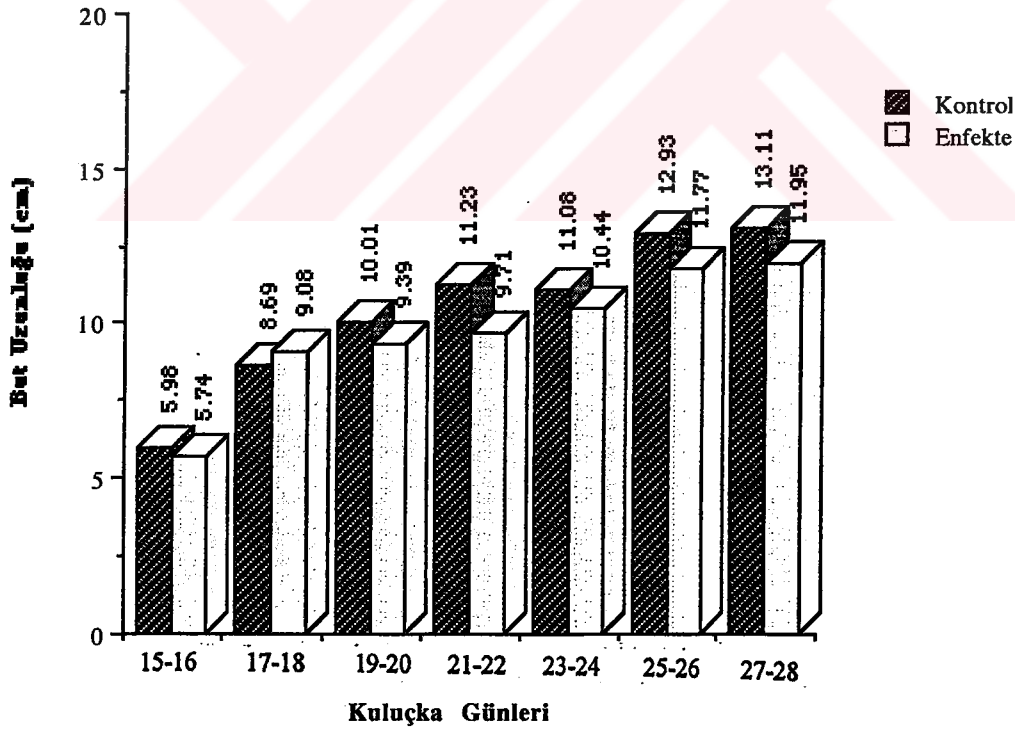


Grafik-2: Enfekte ve kontrol grubu embriyoların but genişlikleri ile kuluçka günleri arasındaki ilişki.

Tablo-6: Kontrol grubu embriyolar ile enfekte grup embriyoların farklı günlerdeki but uzunluklarının ortalama değerleri ve standart sapmaları ile gruplar arasındaki önemlilik durumu.

GRUPLAR (GÜNLER)	Kontrol Grubu		Enfekte Grubu		t Değerleri
	X	S s	X	S s	
I. Grup (15-16.Gün)	5.98	0.625	5.74	0.332	0.537 ⁻
II. Grup (17-18.Gün)	8.69	0.142	9.08	0.172	2.241 ⁻
III. Grup (19-20.Gün)	10.01	0.373	9.39	0.242	1.986 ⁻
IV. Grup (21-22.Gün)	11.23	0.450	9.71	0.383	5.910 ^{***}
V. Grup (23-24.Gün)	11.08	0.131	10.44	0.044	7.556 ^{***}
VI. Grup (25-26.Gün)	12.93	0.250	11.77	0.213	9.040 ^{***}
VII. Grup (27-28.Gün)	13.11	0.066	11.95	0.102	29.104 ^{***}

-: $p > 0.05$, *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$



Grafik-3: Enfekte ve kontrol grubu embriyoların but uzunlukları ile kuluçka günleri arasındaki ilişki.

4.1 Makroskobik Bulgular

Enfekte grup embriyolar ile kontrol grubu embriyoların ölü, canlı, otoliz, felç ve hareketli embriyo sayılarının gruplara göre dağılımı tablo-3'de gösterilmiştir.

I. Grup (15-16. Kuluçka Günleri): Bu grupta, birinci denemede açılan embriyolu yumurtalardan 3 adet ölü, 4 adet embriyonun canlı olduğu, ikinci denemede açılan embriyolu yumurtalardan ise 2 adet ölü, 6 adet embriyonun canlı olduğu tespit edildi. İkinci denemede canlı olduğu tespit edilen 6 adet embriyonun 1'inde felç tablosu (embriyoda hareketsizlik ve kalp hareketi) gözlemlendi. Enfekte ve kontrol grubu embriyolar arasında vücut ağırlığı, but genişliği ve but uzunluğu yönünden önemli bir farklılık gözlenmedi ($P > 0.05$). Makroskobik olarak enfekte embriyolarda; deri altında, özellikle boyun bölgesinde hafif şiddette ödem ve peteşiyal kanamalar tespit edildi. Diğer organlarda dikkati çekici önemli bir bulguya rastlanmadı.

II. Grup (17-18. Kuluçka Günleri): Bu grupta, birinci denemede açılan embriyolu yumurtalardan 2 adet ölü, 4 adet embriyonun canlı olduğu; canlı olan 4 adet embriyonun da 1'inde felç gözlemlendi. İkinci denemede açılan embriyolu yumurtalardan 3 adet ölü, 6 adet embriyonun canlı olduğu; yine canlı olan bu embriyoların 2'sinde felç tespit edildi. Bu kuluçka günlerinde birinci gruptan farklı olarak enfekte ve kontrol grubu embriyolarda vücut ağırlığı, but genişliği ve but uzunlukları enfekte embriyolarda kontrollere göre daha fazla bulunmuş olmakla birlikte, bu farklılık istatistiksel olarak önemli sayılabilecek düzeyde değildi ($P > 0.05$). Makroskobik olarak da enfekte embriyoların kontrol grubu embriyolara göre tüylerinin çıkmadığı, deri altında, özellikle baş ve boyun bölgesinde, bir önceki grupta tespit edilen ödem ve peteşiyal kanamaların daha belirgin

olduğu gözlenmiş olup (Resim- 1), ayrıca diğer gruptan farklı olarak da hafif şiddette hidrosefalusun geliştiği dikkati çekti.

III. Grup (19-20. Kuluçka Günleri): Bu kuluçka günlerinde, birinci denemede açılan 7 adet embriyolu yumurtadan 3 adet ölü, 4 adet canlı embriyonun çıktığı; canlı embriyolardan 2'sinin felç olduğu gözlemlendi. İkinci denemede açılan 10 adet embriyolu yumurtadan 4 adet ölü, 6 adet canlı embriyonun çıktığı; canlı embriyolardan 1'inin felç olduğu tespit edildi. Her iki denemede ölü olan embriyolardan birer adet olmak üzere toplam 2 adet embriyo otoliz nedeniyle değerlendirilmedi. Birinci ve ikinci gruplardan farklı olarak enfekte ve kontrol grubu embriyolar arasında but genişliği yönünden farklılık ilk defa bu grupta saptanmış olup, istatistiksel olarakta ($P < 0,01$) önemli bulundu. Yine enfekte ve kontrol grubu embriyolarda vücut ağırlığı ve but uzunluğu yönünden de farklılık tespit edildi, ancak bu farklılık istatistiksel olarak önemli değildi ($P > 0,05$). Makroskobik olarak önceki iki grup enfekte embriyolarda, deri altında tespit edilen kanamaların bu grupta oldukça şiddetli olduğu ve ayrıca enfekte embriyonun but ve boyun kaslarının kontrol grubu embriyolara göre belirgin derecede küçük olduğu (cüceleşme) dikkati çekti (Resim- 2).

IV. Grup (21-22. Kuluçka Günleri): Bu grupta, ilk denemede açılan embriyolu yumurtalardan 3 adet ölü, 4 adet embriyonun canlı olduğu; canlı embriyolardan ise 1 adedinde felç gözlemlendi. İkinci denemede açılan yumurtalardan 4 adet ölü, 6 adet embriyonun canlı olduğu; canlı embriyolardan da 2'sinin felç olduğu tespit edildi. Yine bu denemede ölü olduğu tespit edilen embriyolardan 2 adedi otoliz nedeniyle değerlendirilmedi. Bu kuluçka günlerinde enfekte ve kontrol grubu embriyolar arasında vücut ağırlığı, but genişliği ve but uzunluğu yönünden önemli derecede farklılık saptanmış olup, tespit edilen bu farklılık vücut ağırlığı ($P < 0,01$), but genişliği ($P < 0,001$) ve but

uzunluğu ($P < 0,001$) itibariyle istatistiksel olarak da önemli bulundu (Resim- 3, 4). Makroskobik olarak, cüceliğin bir önceki gruba göre daha belirgin olduğu tespit edilen bu grupta; enfekte embriyolarda hidrosefalusun oldukça belirgin olduğu (Resim- 5), ayrıca ayaklarda ve ayak parmaklarında bükülme ve kıvrılmaların şekillendiği dikkati çekti.

V. Grup (23-24. Kuluçka Günleri): Bu kuluçka günlerinde, ilk denemede açılan 8 adet embriyolu yumurtadan 4 adet ölü, 4 adet canlı embriyonun çıktığı; canlı embriyolardan ise 3'ünün felç olduğu gözlemlendi. İkinci denemede açılan 9 adet embriyolu yumurtadan 3 adet ölü , 6 adet canlı embriyonun çıktığı; canlı embriyolardan 4 adedinin felç olduğu tespit edildi. İkinci denemede ölü olduğu tespit edilen embriyolardan 1 adet embriyo otoliz nedeniyle değerlendirilmedi. Yine enfekte ve kontrol grubu embriyolar arasında büyüklük farklılığının önemli derecede olduğu, enfekte embriyolarda cüceliğin gözlemlendiği bu grupta; vücut ağırlığı ($P < 0,001$), but genişliği ($P < 0,001$) ve but uzunluğu ($P < 0,001$) itibariyle bir önceki grupta olduğu gibi istatistiksel olarak da oldukça anlamlı bulundu. Enfekte grup embriyolarda makroskobik olarak ayak parmaklarında kıvrılmalar, diz eklemlerinde bükülmeler dikkati çekti (Resim - 6). Bu grupta diğer gruplardan farklı olarak enfekte embriyolarda, karaciğerde hafif şiddette diffuz peteşiyal kanamalar gözlemlendi. Hidrosefalus bu grup enfekte embriyolarda da dikkati çekti.

VI. Grup (25-26. Kuluçka Günleri): Bu grupta, her iki denemede açılan yumurtalardan 5 adet ölü, 10 adet embriyonun canlı olduğu ve canlı embriyoların 6'sının felç olduğu tespit edildi. Ölçüm ve tartım sonuçlarına göre enfekte ve kontrol grubu embriyolar arasında vücut ağırlığı ($P < 0,001$), but genişliği ($P < 0,001$) ve but uzunluğu ($P < 0,001$) yönünden farklılığın devam ettiği saptandı. Makroskobik olarak

enfekte embriyolarda gelişme geriliğinin devam ettiği bu grupta, yine ayak ve parmaklarda kıvrılmalar ile karaciğerde hafif peteşiler gözlemlendi.

VII. Grup (27-28. Kuluçka Günleri): Her iki denemede toplam 21 adet enfekte edilmiş embriyolu yumurtanın açıldığı bu kuluçka günlerinde; 4 adet ölü, 17 adet embriyonun canlı olduğu ve canlı embriyoların 7 adedinin felçli olduğu saptandı. Bu grup enfekte ve kontrol grubu embriyolar arasında büyüklük farkı tespit edilmiş olup, oldukça önemli olduğu saptandı [vücut ağırlığı ($P < 0,001$), but genişliği ($P < 0,001$) ve but uzunluğu ($P < 0,001$)]. Ayak ve parmaklarda kıvrılma ve bükülmelerin devam ettiği bu grupta (Resim - 7), karaciğerde tespit edilen kanamaların daha şiddetli seyrettiği ve kontrol grubu embriyonun karaciğerine göre oldukça konjesyone bir görünümde olduğu saptandı. Ayrıca vücut kaslarının kontrole göre koyu kırmızı ve hemorajik bir görünümde olduğu gözlemlendi. Yine enfekte embriyolarda tortikollis'in şekillendiği, beyinde ise hemorajilerin oluştuğu dikkati çekti (Resim - 8).

Her iki denemede, 15. kuluçka gününden 28. kuluçka gününe kadarki süre içerisinde, yumurta kabuğu kırılarak açılan kontrol grubu (7 grup - 55 adet yumurta) yumurtalardan çıkan embriyolarda makroskobik olarak dikkati çekici bir bulgu gözlenmedi.

4.2. Mikroskobik Bulgular

I. Grup (15-16. Kuluçka Günleri): Bu grup embriyoların beyin, beyincik ve meninks'lerinde hiperemi ile birlikte özellikle optik loplarda olmak üzere, yaygın ödem dikkati çekti. Hiperemi beyincikte daha da şiddetli idi. Özellikle 16. kuluçka gününde beyinde ödem, vasküler proliferasyonlar ile bazı nöronlarda dejenerasyonlar belirlendi (Resim - 9). Medulla spinaliste, 15-16. kuluçka günlerinde servikal ve 16. kuluçka gününde lumbo-sakral bölgede hiperemi, ödem ile birlikte substansiya

grizea'nın kornu ventrale bölgesindeki büyük nöyronlarda dejenerasyon ve nekroz saptandı. Spinal ganglionlarda nöyron dejenerasyonu ve nekroz görüldü (Resim - 10). Karaciğerde sinuzoidal dilatasyon ve sinuzoidlerin içlerinin eritrositlerle dolu olduğu dikkati çekti. İskelet kaslarında kas liflerinin ödemli ve şişkin görünümde olduğu ve bu ödem nedeniyle miyofibrillerin birbirinden ayrıldığı, ayrıca kas lifleri arasında hemorajilerin de varlığı gözlenen mikroskopik bulguları.

II. Grup (17-18. Kuluçka Günleri): Beyin ve beyincikte önceki grupta saptanan hiperemi, ödem bu kuluçka günlerinde de saptandı. Buna ilaveten 16. kuluçka gününde beyinde belirlenen vasküler proliferasyonlar bu grupta beyincikte de oldukça belirgin olarak mevcuttu. Beyinde büyük nöyronlarda, beyincikte ise stratum gangliozum tabakasındaki bazı Purkinje hücrelerinde dejenerasyon ve nekroz ile Purkinje hücre sayısında fark edilebilecek derecede azalma söz konusu idi (Resim - 11). Ayrıca beyin, beyincik ve medulla spinalis'te hafif bir glia hücre infiltrasyonu mevcuttu. Medulla spinalis'in servikal, thorakal ve lumbo-sakral bölgelerinin tümünde hiperemi gözlenmiş olup, bir önceki grupta servikal ve lumbo-sakral bölgede saptanan ödem, nöyron dejenerasyonu ve nekroz, bu grupta thorakal bölgede de gözlendi. Spinal ganglionlarda nöyron dejenerasyonu ve nekrozu ile birlikte fokal hemorajik odaklar belirlendi (Resim - 12). Kalp kasında 18. kuluçka gününde (1 embriyoda) endokard'da fokal lenfoblastik hücre infiltrasyonları belirlendi. İskelet kaslarındaki lezyonların şiddeti daha artmış olup, multifokal hemorajik odaklar ve ödem ile birlikte dejenerasyon dikkati çekti (Resim - 13).

III. Grup (19-20. Kuluçka Günleri): Bu grupta beyin, beyincik ve medulla spinalis'te belirlenen lezyonlar diğer gruptan daha da şiddetli olup, ödem, nöyron dejenerasyonu ve nekrozun yanısıra, özellikle vasküler proliferasyonlar ile glia hücre infiltrasyonu dikkat çekici idi (Resim - 14).

Karaciğerde sinuzoidal dilatasyon ve sinuzoidlerde eritrosit birikimi ile birlikte hepatositlerde dejenerasyon ve nekroz gözlemlendi. Kalp kasında, miyokard ve endokard'da belirlenen hemorajiler dışında bir bulguya rastlanmadı. İskelet kaslarında ödem, diffuz, fokal hemorajik odaklar ile birlikte musküler distrofi söz konusu idi.

IV. Grup (21-22. Kuluçka Günleri): Beyin, beyincik, karaciğer ve kalp kasında gözlenen lezyonlar önceki grup ile aynı idi. Medulla spinalis'in incelenen tüm bölümlerinde meninkslerde hiperemi ile ventral kornulardaki büyük nöyronlarda dejenerasyon, nekroz, vasküler proliferasyon ve diffuz glia hücre infiltrasyonu gözlemlendi. İskelet kaslarında da önceki grupta saptanan lezyonlar gözlenmiş olup, sarkolemma proliferasyonu ile birlikte musküler distrofi daha da belirgindi (Resim - 15).

V. Grup (23-24. Kuluçka Günleri): Bu gruptaki enfekte embriyolarda gözlenen mikroskobik bulgular IV. grup embriyolarda saptanan bulgulara paralellik göstermiş olmakla birlikte farklı olarak, beyincikte Purkinje hücrelerindeki dejenerasyon ve nekroz oldukça şiddetli olup, Purkinje hücre sayısında azalma ile astrositik bir hücre aktivasyonu söz konusu idi (Resim - 16). İskelet kaslarında ödem, hafif hemorajiler ile birlikte musküler distrofi ve sarkolemma proliferasyonu devam etmekte idi (Resim - 17).

VI. Grup (25-26. Kuluçka Günleri): Merkezi sinir sisteminde bu kuluçka günlerine kadar belirlenen lezyonlar oldukça şiddetlenmiş olup, beyin ve medulla spinalis'te gözlenen nöyon dejenerasyonu ve nekrozu sonucu nöyonlar pembe hayali bir görüntü halini almış idi (Resim - 18). Beyincikte Purkinje hücrelerinde dejenerasyon ve nekroz ile yaygın bir astrositik hücre aktivasyonu mevcut idi (Resim - 19). Tüm bölge spinal ganglionlarında dejeneratif ve nekrotik nöyonlara rastlandı. İskelet

kaslarından özellikle but bölgesi kaslarda, ödem, hemoraji ve musküler distrofi vardı.

VII. Grup (27-28. Kuluçka Günleri): Bu grupta şimdiye kadar beyinde gözlenen mikroskobik bulgulara ilaveten beyin damarlarının endotel hücrelerinde şişme ve dolayısı ile damar duvarında bir kalınlaşma saptandı (Resim - 20). Yine bu grupta glia hücre infiltrasyonu oldukça belirgin olup, dejenere ve nekrotik nöronlar etrafında glial bir hücre yoğunlaşması vardı. Beyincikte astrositik hücre aktivasyonu dikkati çekmekte idi. Diğer organlardaki lezyonlar VI. grup enfekte embriyolarda gözlenen bulgularla benzer idi.

Pankreas, dalak, akciğer, bursa Fabrisius, musküler mide, bezli mide, gözler ve korioallantoik membranda, bu kuluçka gününe kadar incelenen enfekte embriyoların hiç birinde mikroskobik olarak patolojik bir lezyon saptanmadı.

Kontrol grubu embriyolara ait dokularda mikroskobik olarak patolojik bir bulguya rastlanmadı.

Bakteriyolojik olarak yapılan ekimlerde, herhangi bir etken üretilmedi.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

1930'lu yıllardan beri dünyanın çoğu ülkesinde ve 1970'li yıllardan beri de ülkemizde varlığı bilinen AE, genç tavuklarda verim düşüklülüğü, özellikle embriyo ile civcivlerde yüksek mortalite ve morbidite ile seyreden akut, bulaşıcı, viral etiyolojili bir hastalıktır (4, 14, 18, 30, 43). Enfeksiyon, kanatlı yetiştiriciliğinde gelişmekte olan ülke kanatlı hayvanlarında olduğu gibi, ülkemiz kanatlılarında da getirilen damızlık yumurta, civciv ve canlı aşılarla ülkemiz hayvanlarında yayılmaya başlamış ve dolayısı ile hastalık kanatlı yetiştiricileri için her zaman endişelere neden olmuştur (11, 14, 15, 17, 24, 30, 48). Gerek ülkemizde ve gerekse dünya üzerindeki bir çok ülkede, doğal ve deneysel olaylarda, tavuk, hindi, bıldırcın ve ördek gibi kanatlı türlerinde AEV'nun izole edilmiş olması, tavuklar dışında diğer kanatlı türlerinde de hastalığa ilgili çalışmaların sürdürüldüğünü kanıtlamaktadır (9, 15, 20, 24, 45, 50, 54, 63), ancak kaz yetiştiriciliğindeki gelişmelere rağmen, yapılan literatür taramalarında kaz ve kaz embriyolarında AE ile ilgili doğal ya da deneysel bir çalışmaya rastlanmamıştır. O nedenle her iki deneme süresince belirlenen makroskobik ve mikroskobik bulgular tavuk, hindi ve bıldırcın gibi kanatlılar üzerinde yapılan araştırma sonuçları ile karşılaştırılmıştır.

Çalışma süresince saptanan makroskobik ve mikroskobik bulgular tavuk, hindi ve bıldırcın embriyolarında bildirilen bulgulara paralellik göstermiş olmasına rağmen (7, 15, 24, 45), piliç, hindi embriyosu ve yumurtadan çıkan bir günlük bıldırcın palazlarında gözlerde bildirilen katarakt (9, 18, 45, 63), kaz embriyolarında tesbit edilememiştir. Gözlerde saptanan ve katarakta zemin oluşturabilecek olan bulgular tavuk embriyoları ile bir günlük civcivler üzerinde yapılan çalışmalarda da bildirilmemiş (50), ancak bıldırcın embriyolarında mikroskobik olarak katarakta öncülük

edebilecek nitelikte lezyonlar bildirilmiş ve bu ise hastalığa özgü bir bulgu olarak değerlendirilmiştir (45).

Tablo 4 ve grafik 1'in incelenmesinden de anlaşılacağı üzere, inokülasyonun 6-7. günlerinde enfekte grup embriyoların vücut ağırlıkları, kontrol grubu embriyoların vücut ağırlıklarına göre artış gösterdiği saptanmıştır. Yine tablo 5,6 ve grafik 2,3'de belirtildiği gibi, inokülasyonun 6-7. günlerinde, enfekte embriyoların but genişliği ile but uzunluklarında da, kontrol grubu embriyolara göre bir artış gözlenmiştir. Ancak belirlenen bu farklılık muhtemelen aynı günlerde enfekte embriyolarda saptanan subkutan ödem ve kanamaların oldukça şiddetli olması ile açıklanabilir. Nitekim, enfekte embriyolarda vücut ağırlığı, but genişliği ve but uzunluklarında saptanan bu farklılık, enfekte embriyolarda ödemin gittikçe hafifleyerek şiddetinin azaldığı 8. inokülasyon gününden itibaren, kontrollerin altına düştüğü görülmüştür.

Makroskobik olarak, hindi embriyolarında (63) inokülasyonun 8-9. günlerinden itibaren, bıldırcın embriyolarında (45) inokülasyonun 6. gününden itibaren ve AE'in tavuk embriyolarında (7) patogeneze yönelik olarak yapılan bir çalışmada inokülasyonun 8. gününden itibaren enfekte embriyolardaki gelişimin yavaşlamaya başladığı ve embriyolarda cüceleşme ile musküler distrofilerin şekillendiği, inkübasyonun sonlarına doğru ise enfektelerle kontroller arasında oldukça belirgin bir gelişme geriliğinin ortaya çıktığı ifade edilmiştir. Bu çalışmada da kaz embriyolarında belirlenen gelişme geriliği ilk defa inokülasyondan sonraki 8-9. günlerde enfekte embriyoların but genişliğinde ($P < 0,01$) saptanmıştır. Yine enfekte embriyolarda aynı günlerde vücut ağırlığı ve but uzunluğu yönünden de farklılık tesbit edilmiş olup, bu farklılığın matematiksel düzeyde olduğu görülmüş ($P > 0,05$) ve inokülasyonun 10-11. günlerinden, inkübasyonun

sonuna kadar bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı ($P < 0.01$, $P < 0.001$) bir şekilde devam ettiği saptanmıştır.

Tavuk, hindi ve bıldırcın embriyolarında yapılan çalışmalarda (27, 45, 52, 63), enfekte embriyolarda makroskopik olarak gözlenen; boyun, but, bacak ve göğüs kaslarındaki subkutan ödem ve peteşiyal kanamalar, kaz embriyolarında inokülasyonun 4. gününden itibaren, hidrosefalus ise inokülasyonun 6. gününden itibaren başlamış olup, inkübasyonun sonuna kadar devam etmiştir.

Bu çalışmada, inokülasyonun 10-11. günlerinde (IV. grup, 21-22. kuluçka günleri) başlayan ayak ve bacaklarda çarpıklıklar ile parmaklardaki kıvrılmaların inokülasyonun 16. gününe (27. kuluçka günü) kadar devam ettiği görülmüştür. Hindi ve tavuk embriyolarında da benzeri bulguların varlığından söz edilmiş olup (7, 15, 24, 63), hindi embriyolarında, inokülasyonun 8-9. günlerinde ayak ve bacaklarda çarpıklıklar ile parmaklardaki kıvrılmaların başladığı ve inokülasyonun 17. gününe kadar devam ettiği bildirilmiştir (63). Bıldırcın embriyolarında ayak ve bacak lezyonlarının şekillenmediği bildirilmiş ve bu da bıldırcın embriyolarının hastalığa daha az duyarlı olması şeklinde açıklanmıştır (45). Bu da, deneysel AE enfeksiyonlarında, bıldırcın embriyolarından farklı olarak, hastalığa karşı duyarlılıkta kaz, hindi ve tavuk embriyolarının daha hassas olduğunu göstermiştir.

Tavuk, hindi ve bıldırcın embriyolarında (7, 15, 25, 27, 37, 45, 56, 57, 63) makroskopik olarak felç tablosu (embriyoda hareketsizlik), tavuk embriyolarında (7), en belirgin olarak inokülasyonun 8. gününde, bıldırcın embriyolarında (45), inokülasyonun 4. gününde başlayıp inkübasyonun sonuna kadar devam ettiği bildirilmiştir. Çalışmamızda ise; kaz embriyolarının bazılarında inokülasyonun 4. gününden başlayıp, inkübasyonun sonuna kadar devam eden bir felç tablosu gözlenmiş olup,

deneme bu haliyle de bıldırcın embriyoları üzerinde yapılan çalışmaya paralellik göstermiştir.

Tavuk, hindi ve bıldırcın embriyolarında (15, 25, 27, 45, 63) merkezi sinir sisteminde, bazı iç organlarda ve iskelet kaslarında mikroskopik olarak bildirilen bulgular, bu çalışmada kaz embriyolarında da gözlenmiştir.

Mikroskopik olarak bu çalışmada, merkezi sinir sisteminde, beyinde belirlenen ödem, vasküler proliferasyon, nöyon dejenerasyonu ve nekrozu ile diffuz glia infiltrasyonu tavuk, hindi ve bıldırcın embriyolarında da saptanmıştır (15, 25, 27, 45, 63). Ancak çoğu araştırmacı tarafından (12, 20, 25, 40, 50) merkezi sinir sisteminde nöyonlarda belirlenen ve AE için patognomonik olarak kabul edilen sentral kromatolizis çalışmamızda saptanmamış olup, hindi ve bıldırcın embriyolarında da varlığından söz edilmemiştir (45, 63).

Merkezi sinir sisteminde, bazı kaynaklarda (20, 24, 40, 41, 46) gözlendiği bildirilen, ancak bıldırcın ve hindi embriyolarında (45, 63) bildirilmeyen vasküler ve perivasküler reaksiyonlar, bu çalışmada gözlenmemekle birlikte, inkübasyonun son günündeki bir embriyonun beyinde, bazı damarların endotel hücrelerinin şişmesi şeklinde kendini gösterdiği ve dolayısı ile damar duvarında bir kalınlaşmaya sebep olduğu görülmüştür.

Bıldırcın, tavuk ve hindi embriyoları ile civcivlerin (22, 25, 45, 46, 55, 58, 63) beyinciğinde gözlenen ödem, vasküler proliferasyon ve glia hücre infiltrasyonu, bu çalışmada da saptanmıştır. Ayrıca beyinciğin stratum gangliozum tabakasındaki Purkinje hücrelerinde, inokülasyonun 6-7. günlerinden (II. grup, 17-18. kuluçka günleri) itibaren, dejenerasyon ve nekrozlar görülmeye başlanmış olup, tavuk ve hindi embriyolarında (25, 63) bu bulguların varlığından söz edilmiş olmasına rağmen bıldırcın embriyolarında benzer bulgular saptanmamıştır (45). Yine beyincikte,

hastalık için oldukça karakteristik bir özellik olarak değerlendirilen (40, 46, 48) astrositik hücre aktivasyonu, sunulan çalışmada inkübasyonun 12. gününden itibaren görülmeye başlanmış olup, inkübasyonun sonuna kadar devam etmiştir.

AE'de medulla spinalis'in büyük nöronlarında gözleendiği bildirilen dejenerasyon ve nekrozların, hastalık için patognomonik bir öneme sahip olduğu ifade edilmiş (20, 25, 30, 50) ve benzeri bulgular tavuk, hindi ve bıldırcın embriyoları ile civcivler üzerinde yapılan çalışmalarda da gözlenmiştir (20, 25, 45, 50, 63). Bu çalışmada ise ilk olarak inkübasyonun 4. gününde servikal, 5. gününde lumbo-sakral ve 6. gününde ise thorakal bölge de dahil olmak üzere medulla spinalis'in tüm bölümlerinde ödem, nöron dejenerasyonu ve nekrozu saptanmıştır.

Medulla spinalis'in tüm bölümlerindeki spinal ganglionlarda 15. inkübasyon gününden itibaren inkübasyonun sonuna kadar bazı nöronlarda dejeneratif değişimler belirlenmiştir. Tavuk embriyolarında yapılan bir embriyolojik çalışmada, 15. güne kadar spinal ganglionlarda dejeneratif değişimlerin gözleendiği ve fizyolojik olarak değerlendirilmesi gerektiği bildirilmiştir (49). Bu da çalışmamızda, spinal ganglionlarda saptanan nöron dejenerasyonu ve nekrozunun AE'e bağlı olarak şekillenen bir lezyon olduğu kanaatini desteklemiş olup, bıldırcın embriyolarında da 15. inkübasyon gününden itibaren benzeri bulguların varlığından söz edilmiştir (45).

Hastalıkta periferel sinirlerde makroskobik ve mikroskobik bir lezyonun gözlenmediği ve bunun ise AE için differansial diagnozda önemli bir bulgu olduğu kaydedilmiştir (11, 20, 30, 50). Bu çalışmada da periferel sinirlerde makroskobik ve mikroskobik olarak herhangi bir patolojik değişiklik saptanmamıştır.

Hastalıkta, genç piliçlerde çeşitli iç organlarda lenfosit hücre infiltrasyonlarının gözlendiği belirtilmiş (11, 12, 20, 24, 30, 47, 48, 50, 54, 55, 60), söz konusu bu infiltrasyonların ise, merkezi sinir sisteminde şekillenen lezyonlara göre daha hafif seyrettiği kaydedilmiştir (50, 57). İç organlarda varlığından söz edilen lenfosit hücre infiltrasyonları başta pankreas ile bezli ve kaslı midenin musküler katı olmak üzere kalp kası, karaciğer, böbrek ve iskelet kaslarında bildirilmiştir (11, 12, 20, 24, 47, 48, 50, 54, 55). Bu çalışmada ise genç piliçlerdekinin aksine lenfosit hücre infiltrasyonları gözlenmemiş olup, tavuk, hindi ve bıldırcın embriyolarında yapılan çalışmalarda da (7, 15, 25, 27, 36, 37, 45, 63) hastalığın teşhisinde patognomonik öneme sahip olduğu belirtilen bu hücre infiltrasyonlarından söz edilmemiştir. Yine embriyoya adapta suş ile deneysel olarak enfekte edilmiş embriyo ya da civcivlerde çoğunlukla merkezi sinir sisteminde göze çarpan sınırlı bir organ tropizminin görüldüğü kaydedilmiştir (37). Bir araştırmacı doğal ya da deneysel enfeksiyonlarda yaş unsurunun önemli bir kriter olduğunu belirterek, yumurtadan yeni çıkmış iken enfekte edilen civcivlerde ölümün oluştuğunu, oysa bir haftalıktan sonra enfekte edilen civcivlerde ise çok nadir olarak ölümün şekillendiğini bildirmiş, ancak hastalığa duyarlılıkta, bursektominin yaş rezistansını ortadan kaldırarak genç piliçlerde hastalığın klinik seyrini şiddetlendirdiğini ve B lenfositlerden oluşan hücre infiltrasyonlarının azalmasına öncülük ettiğini kaydetmiştir (14). Yine bazı kaynaklarda hastalığa karşı duyarlılıkta yaş dirençliliğinin temelinde humoral bağışıklık sisteminin olduğu belirtilmiştir (14, 62). Gerek tavuk, hindi ve bıldırcın embriyolarında ve gerekse bu çalışmada kaz embriyolarında sözü edilen hücre infiltrasyonlarının şekillenmemesi, humoral bağışıklık sisteminin gelişimini tamamlamamış olması, diğer bir ifade ile lenfositlerin bursa Fabricius'daki gelişim aşamalarını tamamlamamış olmaları (45, 62) ile açıklanabilir. Kalp kasında 18. kuluçka

gününde bir embriyoda gözlenen fokal lenfoblastik hücre infiltrasyonunun, normal piliçlerde de gözlenen ve hematopoietik merkezler olarak adlandırılan bölgeler olduğu ifade edilmiştir (48).

Çoğu araştırmacı tarafından (27, 45, 63) tavuk, hindi ve bildircin embriyolarında iskelet kaslarında mikroskobik olarak gözlendiği bildirilen ödem, hemoraji, kaslar distrofi, dejenerasyon ve nekroz ile sarkolemma proliferasyonu bu çalışmada deneme süresince kaz embriyolarının çoğunda, özellikle de but kaslarında olmak üzere gözlendi.

Bakteriyolojik olarak yapılan ekimlerde herhangi bir etkenin üretilmemiş olması bakteriyel kontaminasyon olasılığını ortadan kaldırmıştır.

Tavuk embriyolarında AE'in patogeneziye yönelik olarak yapılan bir immunofluoresan çalışmada (7) 7 günlük tavuk embriyolarına AEV'nun embriyoya adapte edilmiş suşunun inokülasyonundan sonra viral antijenler ilk olarak inokülasyonun 5. gününde beyin, 6. günde kalp, bezli mide, kaslar mide, duodenum ve pankreasta, 7. günde kaslarda ve 8. gün ve sonrasında ise akciğer ve böbreklerde ortaya konmuştur. Yine tavuk embriyolarında patogeneziye yönelik yapılan ayrı bir çalışmada ise (36), inokülasyonun 5. gününden 14. gününe kadar viral antijenler sırasıyla medulla spinalis, spinal ganglionlar, beyin, beyincik, iskelet kasları, böbrek ve karaciğerde tesbit edilmiş olup, korioallantoik membranda ise belirlenmediği ifade edilmiştir. Gerek bu çalışmada kaz embriyolarında gözlenen bulgular ve gerekse tavuk embriyolarında patogeneziye yönelik olarak yapılan immunofluoresan çalışmalar birlikte değerlendirildiğinde, medulla spinalis ve spinal ganglionlar ile beyin ve beyincikte belirlenen bulguların yanısıra, iskelet kaslarında gözlenen lezyonlarında destekler nitelikte bulunmuştur.

AE'in tanısı klinik ve otopsi bulguları göz önünde bulundurularak ve ayrıca virus izolasyonu ve identifikasyonu ile bazı serolojik testlerle de yapılabileceği (14, 17, 23, 30, 59, 60), ancak gerek otopside makroskopik patolojik bir lezyonun gözlenemediği ve gerekse söz konusu laboratuvar metodlarıyla teşhis edilemediği durumlarda ise hastalığın teşhisinin en iyi ve hızlı bir şekilde histopatolojik olarak yapılabileceği kaydedilmiştir (14, 46, 50).

Sonuç olarak bu çalışma ile, AEV'nun yumurtaya adapte Van Roekel suşunun deneysel olarak kaz embriyolarında hastalığa özgü patomorfolojik değişimlere yol açtığı ve embriyonal gelişimi etkilediği ortaya konmuştur. Ancak kaz embriyolarında yapılan inokülasyonlarda, söz konusu patolojik değişimlerin, virusun saha suşları için de geçerli olup olmayacağı bilinmediğinden, bu konuda saha suşlarına yönelik çalışmalara ve ayrıca kaz embriyolarında patogeneze yönelik araştırmalara ihtiyaç olduğu kanısına varılmıştır.

6. ÖZET

Bu çalışmada, Avian Encephalomyelitis Virusu'nun (AEV) kaz embriyolarına deneysel olarak inokülasyonu ile oluşan makroskobik ve mikroskobik değişimlerin incelenmesi amaçlandı. Bunun için 180 adet embriyolu kaz yumurtası kullanıldı. Bunların 125 adedi enfekte ve 55 adedi ise kontrol grubu olarak ikiye ayrıldı. Enfekte grubu oluşturan embriyolu yumurtalara, titresi EİD₅₀ 10⁻³ olarak belirlenen AEV Van Roekel suşu, 1/10 oranında PBS ile sulandırılarak kuluçkanın on ikinci gününde 0,1 ml dozunda sarı kese yoluyla inoküle edildi. İnokülasyondan sonra yumurtadan çıkışın başladığı güne kadar günde iki kez aynı saatlerde embriyoların karanlık odada canlılık kontrolleri yapıldı. Yine inokülasyondan sonra ilk 72 saat içinde (12, 13 ve 14. kuluçka günleri) şekillenen ölümler spesifik olmayan etkilere bağlanarak değerlendirmelerin dışında tutuldu. Daha sonraki kuluçka günlerinde hergün kontrol grubundan (1. denemede 4 adet, 2. denemede 4 adet) 8 adet (27-28. kuluçka günlerinde; 2. denemede 3 adet), enfekte gruptan ise, ölenler ile birlikte 10'ar adet (1. denemede 4 adet, 2. denemede 6 adet) embriyolu yumurta (27-28. kuluçka günlerinde; 1. denemede 9 adet, 2. denemede 8 adet) açıldı. Alınan kontrol ve enfekte embriyoların, vucut ağırlıkları, but genişlikleri ile but uzunlukları ölçüldü. Ölçülerek elde edilen bu verilerin ortalama değerleri ve standart sapmaları hesaplanarak T- testi uygulandı.

Usulüne uygun olarak sistemik nekropsileri yapılan embriyolardan başta beyin, beyincik, medulla spinalis, bezli mide, musküler mide ve pankreas olmak üzere akciğer, karaciğer, kalp kası, böbrek, dalak, bursa Fabricius, iskelet kasları ve gözlerden alınan doku örneklerinden hazırlanan kesitler ışık mikroskobunda incelendi.

Makroskobik olarak embriyoda cüceleşme, hidrosefalus, tortikollis, ayaklarda çarpıklık, diz eklemlerinde bükülme ve parmaklarda kıvrılmalar gözlenen belli başlı bulgular idi. Kontrol ve enfekte grup embriyolar arasında istatistiksel farklılık ($P < 0.01$) ilk olarak III. grupta (19-20. kuluçka günleri) but genişliğinde tespit edilmiş olup, IV. gruptan (21-22. kuluçka günleri) itibaren de tüm vücut ölçülerinde önemli istatistiksel farklılıklar ($P < 0.01$, $P < 0.001$) belirlendi.

Esas olarak hastalığa özgü mikroskobik değişimler merkezi sinir sisteminde gözlemlendi. Bu değişimler; ödem, vasküler proliferasyon, hafif gliozis, nöyron dejenerasyonu ve nekrozu ile karakterize idi. Ayrıca beyinde 27-28. kuluçka günlerinde bazı damarların duvarında kalınlaşma tespit edildi. Beyincikte vasküler proliferasyon, Purkinje hücrelerinde dejenerasyon ve nekroz ile astrositik hücre aktivasyonu ve ödem kaydedildi. Medulla spinaliste ise ödem, nöyron dejenerasyonu ve nekrozu ile spinal ganglionlarda ganglionitis saptandı. İskelet kaslarında dejenerasyon, nekroz, musküler distrofi ve sarkolemma proliferasyonu gözlemlendi.

Sonuç olarak bu çalışma ile, diğer birçok kanatlı embriyolarında olduğu üzere, kaz embriyolarında da AEV'nun Van Roekel suşunun inokülasyonunda ölümler ve spesifik patomorfolojik değişimlerin geliştiği saptandı.

7. SUMMARY

The aim of this study was to investigate macroscopic and microscopic changes induced by Avian Encephalomyelitis Virus (AEV) in goose embryos, one hundred and eighty embryonated goose eggs were used for this purpose. One hundred and twenty five of these eggs were infected and fifty five of them were used as a control group. Twelve-day-old embryos were inoculated in yolk sac with 0.1 ml viral suspension (AEV- Van Roekel strain, $EiD_{50} 10^{-3}$). After the inoculation, the eggs were candled at the same time of the day in a dark room twice a day for the detection of death embryos. Death occurring before the first seventy two hours of the inoculation were not taken into the consideration. On the other days of the incubation period, each day 8 alive embryonated eggs from the control group and 10 together with the dead ones from the infected group were opened. The rump lengths and widths and weights of embryos were measured and weighed. By measuring the approximate value and standard divergence of the data gained, the T - test was applied.

After the necropsy, tissue samples from the brain, cerebellum, spinal cord, proventriculus, gizzard, pancreas, lungs, liver, heart muscle, kidney, spleen, bursa Fabricius, skeletal muscle, and eyes samples were taken and processed routinely for paraffin section. Tissue sections were examined under the light microscope.

Such macroscopic finding in embryos as stunting, hydrocephalus, torticollis, deformities in feet and knee joints, twisting in fingers were the main findings observed. Among the control and infected group embryos, the statistical difference was firstly observed in the 3th group as a rump width ($P < 0.01$) and after the 4th group significant statistic difference was observed in all parts of the body ($P < 0.01$, $P < 0.001$).

Mainly the microscopic changes peculiar to the infection was observed in the central nervous system. These findings included oedema, vascular proliferation, gliosis, neuronal degeneration, and necrosis. Apart from this on the 27th and 28th days of the incubation, increased thickness of vascular wall was observed in the brain. Vascular proliferation and oedema together with astrocytic reaction in the cerebellum, degeneration and necrosis in Purkinje cells were detected. In the spinal cord; oedema, neuronal degeneration and necrosis, and in the spinal ganglions, ganglionitis were determined. In the skeletal muscles; degeneration, necrosis, dystrophy and sarkolemmal proliferation were observed.

As a result, it was determined that AEV Van Roekel strain induced spesific pathomorphologic changes along with deaths in goose embryos as in other avian species.

8. RESİMLER





Resim - 1 : Enfekte embriyolarda deride ve deri altında ödem ile peteşiyal kanamalar. a) Kontrol b) Enfekte (17. Kuluçka günü)



Resim - 2 : Enfekte embriyolarda deri altında yaygın kanamalar ve gelişme geriliği. a) Kontrol b) Enfekte (19. Kuluçka günü)



Resim - 3 : Enfekte embriyolarda gelişme geriliği. a) Kontrol b) Enfekte (21. Kuluçka günü)



Resim - 4 : Enfekte embriyolarda gelişme geriliği. a) Kontrol b) Enfekte (21. Kuluçka günü)



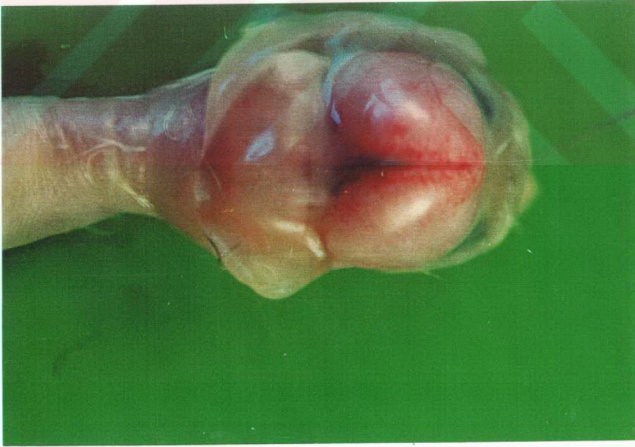
Resim - 5 : Enfekte embriyolarda gelişme geriliği ve hidrosefalus.
a) Kontrol b) Enfekte (22. Kuluçka günü)



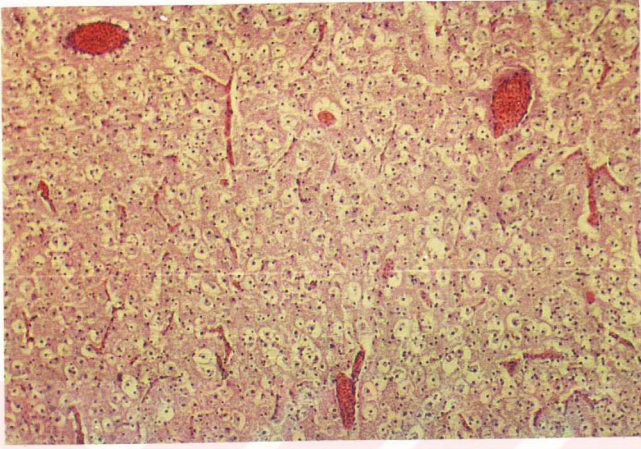
Resim - 6 : Enfekte embriyolarda ayaklarda çarpıklık ve parmaklarda kıvrılmalar. a) Kontrol b) Enfekte (24. Kuluçka günü).



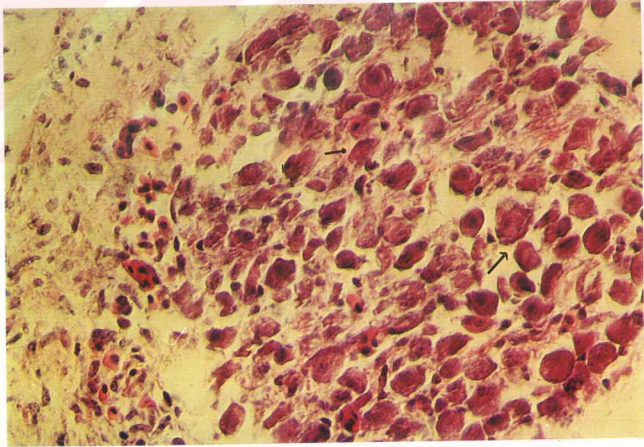
Resim - 7 : Enfekte embriyolarda ayaklarda çarpıklık ve parmaklarda kıvrılmalar. a) Kontrol b) Enfekte (27. Kuluçka günü).



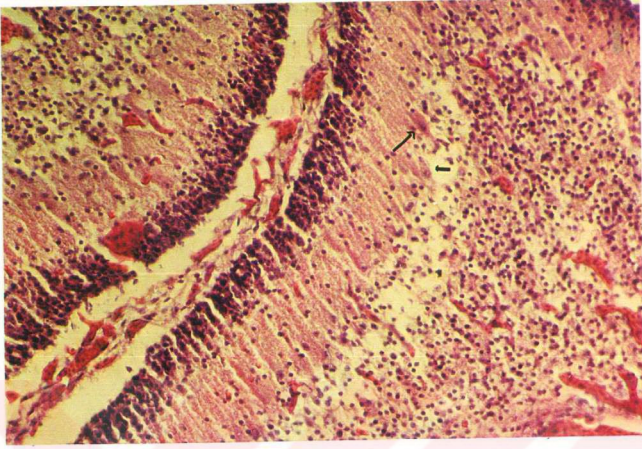
Resim - 8 : Enfekte embriyolarda hidrosefalus ve hemoraji. (28. Kuluçka günü).



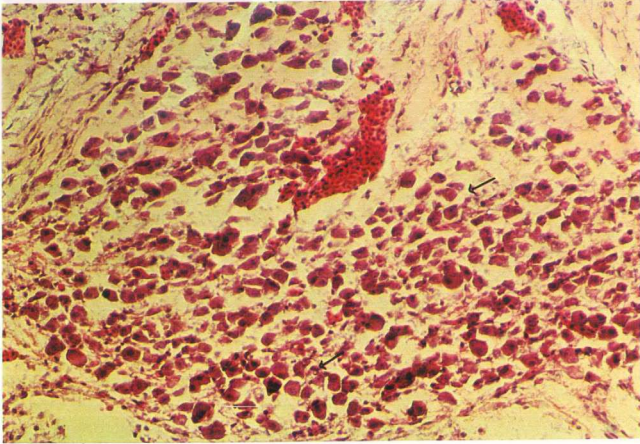
Resim - 9 : Beyinde ödem ve vasküler proliferasyonlar.
(16. Kuluçka günü), H.E., x 33.



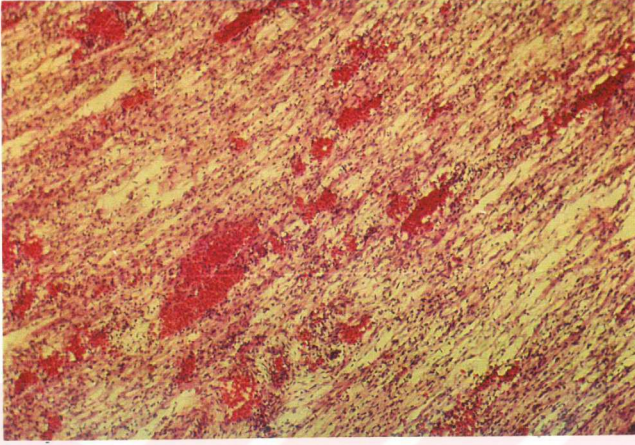
Resim - 10 : Spinal ganglionlarda nöyon dejenerasyonu ve nekroz.
(Oklar), (16. Kuluçka günü), H.E., x 132.



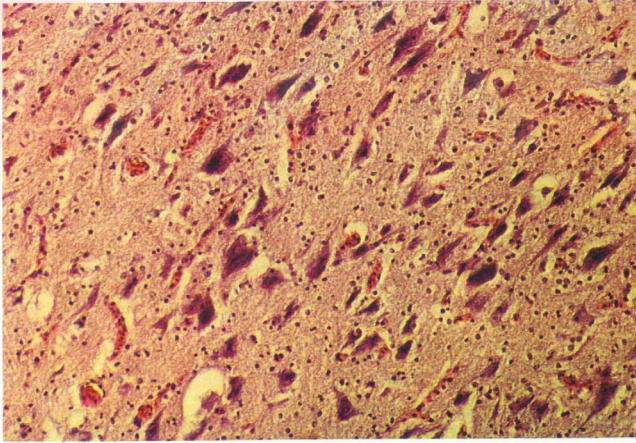
Resim - 11 : Beyincikte Purkinje hücrelerinde dejenerasyon ve nekroz (Oklar) ile koroid pleksuslarda konjesyon. (17. Kuluçka günü), H.E., x 66



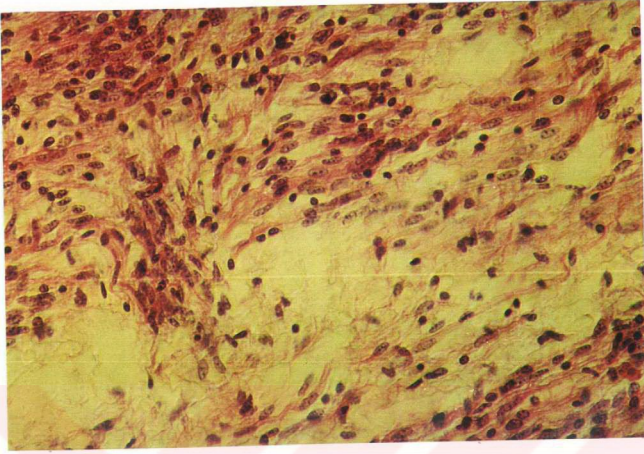
Resim - 12 : Spinal ganglionlarda nöyon dejenerasyonu ve nekroz (Oklar) ile fokal hemorajik odaklar. (18. Kuluçka günü), H.E., x 66



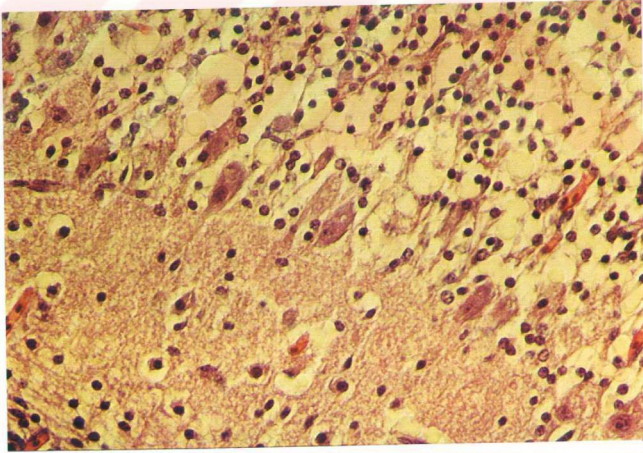
Resim - 13 : İskelet kaslarında multifokal hemorajik odaklar ve dejenerasyon. (18. Kuluçka günü), H.E., x 33



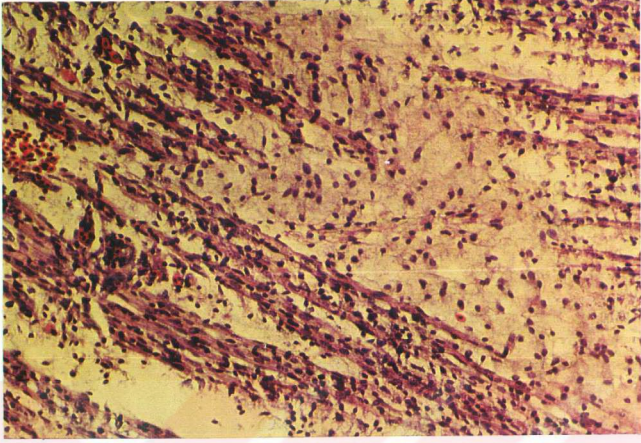
Resim - 14 : Beyinde nöyon dejenerasyonu ve nekrozu ile hafif şiddette gliozis. (19. Kuluçka günü), H.E., x 66



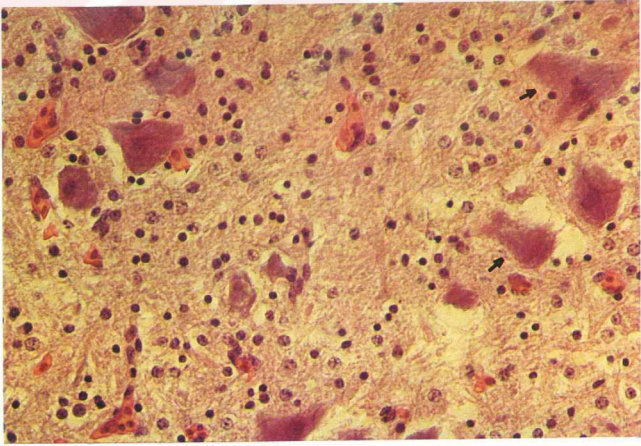
Resim - 15 : İskelet kaslarında distrofi ve sarkolemma proliferasyonu. (21. Kuluçka günü), H.E., x 132



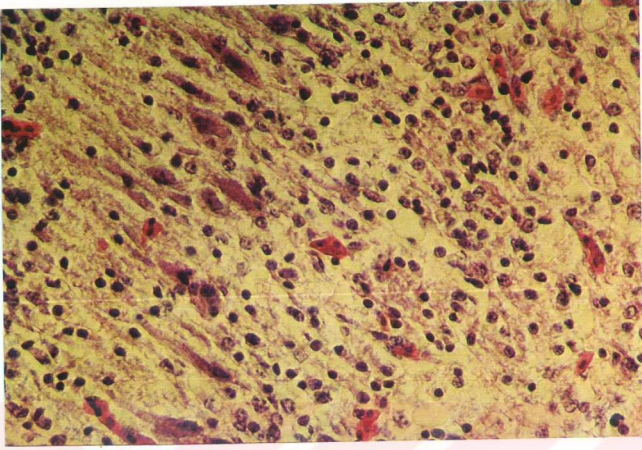
Resim - 16 : Beyincikte dem, Purkinje hücrelerinde dejenerasyon ve nekroz ile astrositik hücre aktivasyonu. (23. Kuluçka günü), H.E., x 132



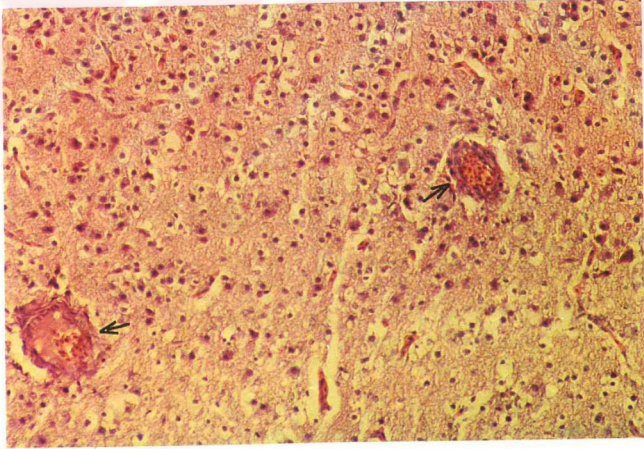
Resim - 17 : İskelet kaslarında distrofi ve sarkolemma proliferasyonu. (24. Kuluçka günü), H.E., x 66



Resim - 18 : Beyinde nöyon dejenerasyonu ve nekrozu (Oklar) ile hafif şiddette gliozis. (25. Kuluçka günü), H.E., x 132



Resim - 19 : Beyincikte Purkinje hücrelerinde dejenerasyon ve nekroz ile astrositik hücre aktivasyonu. (25. Kuluçka günü), H.E., x 132



Resim - 20 : Beyinde damar duvarında kalınlaşma. (Oklar), (28. Kuluçka günü), H.E., x 66

9. KAYNAKLAR

1. Aitken, I., Allan, W.H., Biggs, P.M., Gordon, R.F. and Jordan, F.T.W. (1977). Infectious Avian Encephalomyelitis. P. 113-117. Ed. Gordon, R.F., Poultry Diseases. Printed by Page Bros (Norwich) Ltd, Norwich, England.
2. Arda, M. (1986). Avian Ensefalomiyelitis (AE, Epidemik Tremor). 31-32. Tavukların Önemli Hastalıkları ve Korunma Yolları. Medisan Yayınevi, Ankara.
3. Arda, M., Minbay, A., Aydın, N., Akay, Ö. ve İzğür, M. (1994). Avian Ensefalomiyelitis. 140-144. Kanatlı Hayvan Hastalıkları. Medisan Yayınevi, Ankara.
4. Babila, A., Ası, Y., Akçadağ, B. ve Gürsel, A. (1988). İstanbul ve Trakya Bölgesi Kümes Hayvanlarında Inf. Bronchitis (IB), Inf. Laryngotracheitis (ILT), Bursal Disease (IBD), Egg Drop Sendrom (EDS-76), Avian Encephalomyelitis (AE) ve Adenovirus Enfeksiyonlarının Epizootiolojik Araştırılması ve İzolasyon Çalışmaları. Pendik Hay. Hast. Mer. Arst. Enst. Derg., 19, 66-77.
5. Babjee, A.M. (1969). Specific and Non-Specific Conditions Affecting Avian Eyes. Vet. Bull., 39, 681-687.
6. Beach, J.R. (1939). Poultry Disease. J.A.W.M.A., 95, 613-623. Alınmıştır. Van der Heide, L. (1970). The Fluorescent Antibody Technique in the Diagnosis of Avian Encephalomyelitis. Tech. Bull. Univ. Maine, 44, 1-79.
7. Braune, M.O. and Gentry, R.F. (1971). Avian Encephalomyelitis Virus. I. Pathogenesis in Chicken Embryos. Avian Dis., 15, 638-647.
8. Braune, M.O. and Gentry, R.F. (1971b). Avian Encephalomyelitis Virus. II. Pathogenesis in Chickens. Avian Dis., 15, 648-653.

9. Bridges, C.H. and Flowers, A.I. (1958). Iridocyclitis and Cataracts Associated with an Encephalomyelitis in Chickens. *J.A.V.M.A.*, 15, 79-84.
10. Burke, C.N., Krauss, H. and Luginbuhl, R.E. (1965). The Multiplication of Avian Encephalomyelitis Virus in Chicken Embryo Tissues. *Avian Dis.*, 9, 104-108.
11. Butterfield, W.K., Helmboldt, C.F. and Luginbuhl, R.E. (1968). Studies on Avian Encephalomyelitis. VI. Early Incidence and Longevity of Histopathologic Lesions in Chickens. *Avian Dis.*, 13, 53-57.
12. Butterfield, W.K., Luginbuhl, R.E. and Helmboldt, C.F. (1969). Characterization of Avian Encephalomyelitis Virus (an Avian Enterovirus). *Avian Dis.*, 13, 363-378.
13. Calnek, B.W., Taylor, P.J. and Sevoian, M. (1960-2). Studies on Avian Encephalomyelitis. VI. Epizootiology. *Avian Dis.*, 4, 325-347.
14. Cheville, N.F. (1970). The Influence of Thymic and Bursal Lymphoid Systems in the Pathogenesis of Avian Encephalomyelitis. *Am. J. Pathol.*, 58, 105-125.
15. Deshmukh, D.R., Hohlstein, W.M., McDowell, J.R. and Pomeroy, B.S. (1971). Prevalence of Avian Encephalomyelitis in Turkey Breeder Flocks. *Am. J. Vet. Res.*, 32, 1263-1267.
16. Feibel, F., Helmboldt, C.F., Jungherr, L. and Carson, J.R. (1952). Avian Encephalomyelitis - Prevalans. Pathogenicity of the Virus and Breed Susceptibility. *Am. J. Vet. Res.*, 13, 260-266.
17. Fenner, F.J., Gibbs, E.P.J., Murphy, F.A., Rott, R., Studdert, M.J. and White, D.O. (1993). Picornaviridae. Avian Enteroviruses. 419-423. *Veterinary Virology*. Second Ed. Academic Press. Inc., Newyork.
18. Girgin, H. (1971). Yurdumuzda Avian Encephalomyelitis Olayları ve Göz Bulguları. *Etlık Vet. Bak. Enst. Derg.*, 3, 1-26.

19. Gülbaz, K. (1996). Kazlarda Kuluçka Randımanını Etkileyen Faktörler. Kafkas Üniv. Sağ. Bil. Enst. Yüksek Lisans Semineri. Kars.
20. Hazıroğlu, R., Alçıgır, G. ve Karademir, N. (1990). Piliçlerde Avian Encephalomyelitis. A. Ü. Vet. Fak. Derg., 37, 207-213.
21. Hill, R.W. and Raymond, R.G. (1962). Apparent Natural Infection of Coturnix Quail Hens with the Virus of Avian Encephalomyelitis Case Report. Avian Dis., 6, 226-227.
22. Hışıda, N., Odagırı, Y., Kotanı, T. and Horuchi, T. (1986). Morphological Changes of Neurons in Experimental Avian Encephalomyelitis. Jpn. J. Vet. Sci., 48, 169-172.
23. Hoekstra, J. (1964). Experiments with Avian Encephalomyelitis. Brit. Vet. J., 120, 322-335.
24. Hohlstein, W.M., Deshmukh, D.R., Larsen, C.T., Sautter, J.H., Pomeroy, B.S. and McDowell, J.R. (1970). An Epiornithic of Avian Encephalomyelitis in Turkeys in Minnesota. Am. J. Vet. Res., 31, 2233-2242.
25. Itakura, C. and Goto, M. (1975). Avian Encephalomyelitis in Embryos and Abnormal Chicks on the Day of Hatching. Neurohistopathological Observations. Jpn. J. Vet. Sci., 37, 21-28.
26. Jones, E.E. (1932). An Encephalomyelitis in the Chicken. Science. 76, 331-332. Alınmıştır. Van der Heide, L. (1970). The Fluorescent Antibody Technique in the Diagnosis of Avian Encephalomyelitis. Tech. Bull. Univ. Maine, 44, 1-79.
27. Jungherr, E., Sumner, F. and Luginbuhl, R.E. (1956). Pathology of Egg-Adapted Avian Encephalomyelitis. Science, 124, 80-81.
28. Kodama, H., Sato, G. and Miura, S.(1975). Avian Encephalomyelitis Virus in Chicken Pancreatic Cell Cultures. Avian Dis., 19, 556-565.

- 29.** Krauss, V.H. and Veberschar, S. (1966). Zur Ultrastructur des Virus der Aviaren Encephalomyelitis. Berl. Münch. Tierarzt. Woch., 79, 480-482.
- 30.** Luginbuhl, R.E., Helmboldt, C.F. and Calnek, B.W. (1984). Avian Encephalomyelitis (Epidemic Tremor). P. 471-481. Ed. Hofstad, M.S., Barnes, H.J., Calnek, B.W., Reid, W.M. and Yoder, Jr.H.W., Diseases of Poultry. Eighth Ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa. U.S.A.
- 31.** Luna, L.G. (1970). Manuel of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology. McGraw. Hill Book Company. Newyork, U.S.A.
- 32.** Mancini, L.O. and Yates, V.J. (1967). Cultivation of Avian Encephalomyelitis Virus in Vitro. I. In Chick Embryo Neuroglial Cell Culture. Avian Dis., 11, 672-679.
- 33.** Mancini, L.O. and Yates, V.J. (1968a). Cultivation of Avian Encephalomyelitis Virus in Vitro. II. In Chick Embryo Fibroblastic Cell Culture. Avian Dis., 12, 278-284.
- 34.** Mancini, L.O. and Yates, V.J. (1968). Research Note - Cultivation of Avian Encephalomyelitis Virus in Chicken Embryo Kidney Cell Culture. Avian Dis., 12, 686-688.
- 35.** Mathey, W.J.Jr. (1955). Avian Encephalomyelitis in Pheasants. Cornell. Vet., 45, 89-93.
- 36.** Miyamae, T. (1975). Comparative Pathogenicity of Avian Encephalomyelitis Viruses in Chicken Embryos. Am. J. Vet. Res., 36, 903-907.
- 37.** Miyamae, T. (1977). Immunofluorescent Study on Egg-Adapted Avian Encephalomyelitis Viruses Infection in Chickens. Am. J. Vet. Res., 38, 2009-2012.

- 38.** Miyamae, T. (1983). Invasion of Avian Encephalomyelitis Virus from the Gastrointestinal Tract to the Central Nervous System in Young Chickens. *Am. J. Vet. Res.*, 44, 508-510.
- 39.** Mohanty, G.C. and West, J.L. (1968-1). Research Note-Some Observations on Experimental Avian Encephalomyelitis. *Avian Dis.*, 12, 689-693.
- 40.** Mohanty, G.C. and West, J.L. (1968). Pathogenesis and Pathologic Features of Avian Encephalomyelitis in Chicks. *Am. J. Vet. Res.*, 29, 2387-2400.
- 41.** Mohanty, G.C. and West, J.L. (1972). Pathogenesis and Histologic Features of Dorsal Root Ganglia Lesions in Chicks. *Avian Dis.*, 16, 31-41.
- 42.** Moore, R.W. and Flowers, A.I. (1959). The Development of a Chicken Embryo Lethal Strain of Avian Encephalomyelitis Virus. *Avian Dis.*, 3, 239-244.
- 43.** Özcan, C. (1994). Elazığ, Diyarbakır, Malatya İlleri ve Çevrelerinde Avian Encephalomyelitis Üzerine Serolojik Araştırma. *Pendik Vet. Mikrobiyol. Derg.*, 25, 55-61.
- 44.** Özer, H., Metin, N., Eröksüz, H., Eröksüz, Y. ve Yılmaz, F. Avian Encephalomyelitis Virusu ile Enfekte Edilmiş Bir Günlük Bildircin (*Coturnix coturnix Japonica*) Palazlarında Patolojik Bulgular. *YUTAV. Uluslararası Tavukçuluk Fuarı ve Konferansı. (1995), İstanbul. 599-606.*
- 45.** Özer, H., Eröksüz, H., Eröksüz, Y., Gülcü, B., Muz, A. ve Yılmaz, F. (1996). Avian Encephalomyelitis Virusu ile Enfekte Edilmiş Bildircin (*Coturnix coturnix Japonica*) Embriyolarında Patolojik Bulgular. *Tr. J. Vet. and Anim. Sci.*, 20, 95-102.
- 46.** Pattison, M. (1973). Histopathology of Some Viral Infections of the Central Nervous System of the Domestic Fowl. *Vet. Bull.*, 43, 305-306.

- 47.** Randall, C.J. (1991). A Colour Atlas of Diseases and Disorders of the Domestic Fowl and Turkey. Wolfe Publishing Ltd. London.
- 48.** Riddell, C. (1987). Avian Histopathology. American Association of Avian Pathologists. Allen Press Inc., Lawrence, Kansas. U.S.A.
- 49.** Romanoff, A.L. (1960). The Avian Embryo. P. 339-344. Structure and Functional Development. First Ed., Macmillan Company, New York. U.S.A.
- 50.** Sağlam, Y.S. ve Erer, H. (1997). Civcivlerde Deneysel Avian Encephalomyelitis Hastalığında Klinik ve Histopatolojik Bulguların İncelenmesi. Etlik Vet. Mik. Derg., 9, 31-46.
- 51.** Schaaf, K. and Lamoreux, W.F. (1955). Control of Avian Encephalomyelitis by Vaccination. Am. J. Vet. Res., 16, 627-633.
- 52.** Shafren, D.R. and Tannock, G.A. (1991). Pathogenesis of Avian Encephalomyelitis Viruses. J. Gen. Virol., 72, 2713-2719.
- 53.** Snedecor, G.W. and Cochran, W.G. (1980). Statical Methods. Seventh Ed. Iowa State University Press, Ames. Iowa, U.S.A.
- 54.** Sönmez, G., Çarlı, K.T. ve Ertürk, E. (1989-90). Bursa Yöresinde Avian Encephalomyelitis Salgını. Uludağ Univ. Vet. Fak. Derg., 1-2-3 (1989), 1-2-3 (1990), 8-9, 7-16.
- 55.** Springer, W.T. and Schmittle, S.C. (1968). Avian Encephalomyelitis: A Chronological Study of the Histopathogenesis in Selected Tissues. Avian Dis., 12, 229-239.
- 56.** Sumner, F.W., Jungherr, E.L. and Luginbuhl, R.E. (1957). Studies on Avian Encephalomyelitis. I. Egg Adaptation of the Virus. Am. J. Vet. Res., 18, 717-719.

57. Sumner, F.W., Luginbuhl, R.E. and Jungherr, E.L. (1957). Studies on Avian Encephalomyelitis. II. Flock Survey for Embryo Susceptibility to the Virus. *Am. J. Vet. Res.*, 15, 720-723.
58. Taylor, L.W., Lowry, D.C. and Raggi, L.G. (1955). Effects of an Outbreak of Avian Encephalomyelitis (Epidemic Tremor) in a Breeding Flock. *Poultry Sci.*, 34, 1036-1045.
59. Van der Heide, L. (1970). The Fluorescent Antibody Technique in the Diagnosis of Avian Encephalomyelitis. *Tech. Bull. Univ. Maine*, 44, 1-79.
60. Van Roekel, H. (1965). Avian Encephalomyelitis (Epidemic Tremor). P. 771-783. Ed. Biester, H.E. and Schwarte, L.H., *Diseases of Poultry*. Fifth Ed., The Iowa State University Press, Ames, Iowa, U.S.A.
61. Van Steenis, G. (1971). Survey of Various Avian Species for Neutralizing Antibody and Susceptibility to Avian Encephalomyelitis Virus. *Res. Vet. Sci.*, 12, 308-311.
62. Veromaa, T. (1988). *Function of Bursa Fabricius*. University of Turku Press. Finland.
63. Yılmaz, F. ve Özer, H. (1999). Hindi Embriyosunda Deneysel Avian Encephalomyelitis (AE) Üzerinde Morfolojik İncelemeler. *Tr. J. Vet. and Anim. Sci.*, 23, 205-213.

10. ÖZGEÇMİŞ

1970 yılında Elazığ'ın merkezine bağlı Ballıca köyünde doğmuşum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Elazığ'da tamamladım. 1988 yılında girdiğim Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nden 1993 yılında mezun oldum. 1994 yılı Şubat ayında Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda doktora eğitimine başladım. 1995 yılı Ocak ayında Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nde araştırma görevlisi kadrosuna atanarak Patoloji Anabilim Dalı'nda görevlendirildim. Halen aynı Anabilim Dalı'nda çalışmaktayım. Evli ve iki çocuk babasıyım.



11. TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı bana doktora tezi olarak veren ve çalışmalarım süresince yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Prof.Dr. Harun ÖZER'e saygı ve şükranlarımı sunarım. F. Ü. Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden sayın Doç.Dr. Erkan KARADAŞ, Yrd.Doç.Dr. Hatice ERÖKSÜZ ve Yrd.Doç.Dr. Yesari ERÖKSÜZ ile emeği geçen tüm arkadaşlarıma teşekkür ederim. Ayrıca araştırmanın yürütülmesi sırasında yumurta temininde katkıda bulunan Tarım ve Köyüşleri Bakanlığı, Kars İl Müdürü sayın Hüseyin ZENGİN'e ve Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Dekanı sayın Prof.Dr. Abdül Kadir AKCAN'a, son olarak ta virusun hazırlanması ve inokülasyonun yapılmasında yardımlarını esirgemeyen Sivrice Meslek Yüksek Okulu öğretim üyelerinden sayın Yrd.Doç.Dr. Fethi YILMAZ'a teşekkürü bir borç bilirim.

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
BOKSANTASYON BELLEKÇİ