



T. C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Patoloji Anabilim Dalı

**DENEYSEL GUMBORO HASTALIĞI VİRUSU, REOVİRUS VE
ADENOVİRUS ENFEKSİYONLARINDA ŞEKİLLENEN
MAKROSKOPİK VE MİKROSKOPİK LEZYONLARIN
KARŞILAŞTIRMALI OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

T 48940

(DOKTORA TEZİ)

ÖZLEM ÖZMEN

Danışman: Doç. Dr. M. MÜFİT KAHRAMAN

Bursa -1996

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	1-2
SUMMARY.....	3-4
GİRİŞ.....	5-13
GEREÇ VE YÖNTEM.....	14-20
BULGULAR.....	21-49
1-Klinik Semptomlar.....	21-23
2-Nekropsi Bulguları.....	24-28
3-Mikroskopik Bulgular.....	29-42
4-Kan Tablosu Bulguları.....	42-44
5-Bursa Fabricius Sürme Preparatı Bulguları.....	45-46
6-Reizolasyon Bulguları.....	47-49
TARTIŞMA VE SONUÇ.....	50-57
KAYNAKLAR.....	58-67
TEŞEKKÜR.....	68
ÖZGEÇMİŞ.....	69

**Bu çalışma TÜBİTAK VHAG-1127 nolu ve U. Ü. Araştırma Fonu 96/5 nolu proje
olarak desteklenmiştir**

ÖZET

Bu çalışmada Gumboro Hastalığı Virusu (Infectious Bursal Disease Virus-IBDV), Reovirus ve Adenovirus'un standart suşları ile oluşturulacak tekli, ikili ve üçlü enfeksiyonlarda şekillenen lezyonları incelemek, bu lezyonları sahadaki üçlü enfeksiyonlardan izole edilen saha izolatının verildiği gruptaki lezyonlarla karşılaştırmalı olarak değerlendirmek ve elde edilen sonuçlardan teşhise yardımcı kriterler geliştirmek amaçlanmıştır. Araştırmanın deneysel kısmında bir günlük , White-Lohman ırkı, erkek, 180 civciv kullanıldı. Yirmişer civcivlik 9 grup oluşturularak, birinci, ikinci, üçüncü gruplara sırasıyla sadece IBDV, Reovirus, Adenovirus; dördüncü, beşinci ve altıncı gruplara IBDV+Reovirus, IBDV+Adenovirus ve Reovirus+Adenovirus birlikte; yedinci gruba üç virus birlikte; sekizinci gruba sahadan üçlü enfeksiyonlardan elde edilen ve üç virusun da saha suşlarını içeren izolat verildi. Dokuzuncu grup kontrol grubu olarak ayrıldı. İnokülasyonlar bir günlük civcivlere ağız yoluyla yapıldı. Takiben üçer günlük periyotlarla her gruptan ikişer civciv ayrılarak nekropsileri yapıldı. Klinik olarak inokülasyondan sonra deney gruplarında 1-2 gün süren durgunluk hali gözlemlendi. Bir kaç civcivde depresyon, tüylerde kabarma ve gelişme geriliği dikkati çekti. Bazı civcivlerde hafif şiddette ishal görüldü. Deney süresince hiç bir grupta ölüm gözlenmedi.

Nekropsilerde Gumboro Hastalığı virusu ile tekli (G), ikili (GR, GA) ve üçlü (GRA) enfeksiyon oluşturulan gruplar ile saha grubunda (S) bursa Fabricius'ların kontrol grubu ile karşılaştırıldıklarında büyük oldukları, diğer grupların (A, R ve RA) bursa Fabricius'larının ise küçük oldukları gözlemlendi. Bazı civcivlerde timusta atrofi görüldü. IBDV+Adenovirusun verilen grupta en belirgin lezyon karaciğerdeki

kanamalarıdır. Bunun dışında deney gruplarında inokülasyondan sonraki bir hafta içinde bağırsakların gergin olduğu, lümeninde sulu kıvamlı bir içerik bulunduğu görüldü.

Mikroskopide deney gruplarında en fazla etkilenen organ bursa Fabricius'tu. Bu organda hafif hiperemi ve ödemden, nekroz ve atrofiye kadar değişen bulgular gözlemlendi. Gruplara göre değişmekle birlikte bursa Fabricius dışında karaciğer, timus, pankreas, bağırsaklar ve akciğerler etkilenen diğer organlardı.

Nekropsi öncesi alınan kanların total lökosit formülü yönünden incelenmesinde deney gruplarındaki civcivlerde kontrol grubuna göre heterofil lökosit sayısının genellikle yüksek olduğu gözlemlendi. Bursa Fabricius'lardan yapılan sürme preparatlarının incelenmesinde deney gruplarında heterofil ve plazma hücresi sayısında artış görüldü.

Sonuç olarak iki yada üç virus birlikte verilerek enfeksiyon oluşturulan gruplar ile saha izolatu verilen grupta şekillenen lezyonların tekli enfeksiyon oluşturulan gruplara göre daha şiddetli olduğu ($P<0.001$), saha izolatu verilen grupta şekillenen makroskobik ve mikroskobik lezyonların üçlü ve ikili enfeksiyon oluşturulan gruplarda şekillenen lezyonlara benzediği dikkati çekti ($P>0.05$). Saha grubu ile üçlü enfeksiyon oluşturulan grup arasındaki benzerliğin daha fazla olduğu görüldü. Saha grubuna verilen virus miktarının (0.3 ml.) ve titresinin düşük olduğu, buna karşılık üçlü enfeksiyon oluşturulan gruba verilen virus miktarının (1 ml.) ve titresinin yüksek olduğu düşünülerek ülkemizde saha salgınlarında enfeksiyon oluşturan virus suşlarının oldukça virulent suşlar olduğu kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Gumboro Hastalığı (Infectious Bursal Disease-IBD), Reovirus, Adenovirus, Deneysel Enfeksiyon, Patoloji.

SUMMARY

In this study, to examine the lesions formed in the infections induced by single, or duplicate and triplicate combinations of Gumboro (G) Disease Virus [Infectious Bursal Disease Virus (IBDV)], Reovirus (R) and Adenovirus (A), to comparatively evaluate of these lesions with those lesions formed in the group received field isolate (S) of triplicate field infections and to develop helpful diagnostic criteria based on the results are aimed. In the experimental part of the study, White-Lohman breed, one-day old, male, 180 chickens were used. By forming 9 groups, each composed of 20 chickens, only IBDV, R, and A to 1st, 2nd and 3rd groups; IBDV+R, IBDV+A and R+A to 4th, 5th and 6th groups respectively; three viruses together to 7th group and the isolate obtained from the triplicate field infections to 8th group were inoculated. The 9th group designated as control. Following the oral inoculation of one-day-old chickens, 2 chickens from each group were sacrificed, and necropsied with three day intervals. Clinically, depression lasting for 1-2 days was observed after inoculation in experimental groups. In a few chickens, depression, ruffled feathers, growth retardation were observed. In some chickens diarrhea was observed. No deaths were seen in any groups during the experiment.

In necropsies, while the bursa Fabricius (bF) of the chickens from the single (G), duplicate (GR, GA), triplicate (GRA) infections with IBDV and field (S) groups were larger than those of chickens in control group, bF of chickens from the A, R and RA infections groups were smaller than those of control group. A thymic atrophy was seen in some of the chickens. Hemorrhageas in the livers were the most prominent lesion in the group inoculated with IBDV+Adenovirus together. Also,

intestines were seen to be tense and to contain watery content in experimental groups at the first week after the inoculation.

Microscopically, bursa of Fabricius was the most severely affected organ. In this organ, lesions varying from slight hyperemia and oedema to necrosis and atrophy were observed. Liver, thymus, pancreas, intestines and lungs were the other affected organs while differing among groups.

In the examination of blood samples taken before necropsies, total leucocyte numbers were generally higher in experimental groups in regard to the control groups. In the examination of smears prepared from bF, an increase in the numbers of heterophil leucocytes and plasma cells was observed in experimental groups.

As a result, lesions were more severe in the groups given combinations of the two, three viruses and in the field isolate group with compare to those of animals which received only one virus ($P < 0.001$). It was observed that macroscopical and microscopical lesions formed in the group given field isolate were similar to the triplicate and duplicate infection groups ($P > 0.05$). If it is thought that the amount (0.3 ml) and titer of virus given to field group was low, compare to those in triplicate infection group (1 ml.), it can be concluded that the virus strains forming infections in field epizooties in our country are very virulant strains.

Key Words: Gumboro Disease (Infectious Bursal Disease-IBD), Reovirus, Adenovirus, Experimental Infection, Pathology.

GİRİŞ

Ülkemizdeki tavukçuluk sektörü son yıllarda oldukça gelişmiş, modern ve büyük kapasiteli birçok işletmenin açılmasıyla başlı başına bir endüstri durumuna gelmiştir. Ekonomik değeri büyük olan bu sektörün önemli problemlerinden bir tanesi salgın hastalıklar olup özellikle viral hastalıklar sorun olmaktadır. Gumboro hastalığı da (Infectious Bursal Disease-IBD) bunların başında gelmektedir. Gumboro hastalığı klinik formunda ölümlere yol açması, subklinik formunda ise immunosupresyon oluşturmasıyla önem taşır. Subklinik formda oluşan immunosupresyon, civcivleri diğer enfeksiyonlara duyarlı hale getirirken, koruma amacıyla yapılan aşılamalarda yeterli bağışıklığın oluşmamasına yol açar.

Son yıllarda Manisa Tavuk Hastalıkları Araştırma ve Aşı Üretim Enstitüsü'nce yapılan çalışmalarda ülkemizde Gumboro hastalığının en çok Reovirus ve Adenovirus enfeksiyonları ile birlikte seyrettiği bildirilmiştir (1,2). Bu nedenle deneysel olarak oluşturulacak tekli, ikili, üçlü enfeksiyonlar ile sahadan izole edilen ve üç virüsü de içeren saha izolatinin kullanılmasıyla oluşturulan enfeksiyonlarda şekillenecek klinik semptomlar, kan tablosundaki değişiklikler ile makroskobik ve mikroskobik bulguların karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi ve hastalığın erken tanısına yönelik kriterlerin oluşturulması amaçlanmıştır.

GUMBORO HASTALIĞI (INFECTIOUS BURSAL DISEASE-IBD)

Gumboro Hastalığı civcivlerin dehidrasyon, bacak ve but kaslarında kanamalar, bağırsaklarda mukus artışı, renal değişiklikler ve bursa Fabricius'ta büyüme ile karakterize bulaşıcı bir hastalıdır. İlk kez 1962'de Cosgrove tarafından Amerika Birleşik Devletleri'nin Delaware eyaletinin Gumboro bölgesinden bildirilmiş ve

hastalığın bulunduğu bölgede "Gumboro Hastalığı" olarak tanındığı rapor edilmiştir. Araştırmacı bu hastalığa böbrek tubullerindeki dejeneratif lezyonlardan dolayı "Avian Nephrosis" adını vermiştir. Bakteriyel ekimlerin negatif sonuç vermesi hastalığın viral bir etken tarafından oluşturulduğunu düşündürmüştür (3). Bir çok araştırmacı iki haftalığa kadar olan civcivlerde Gumboro Hastalığı'nın klinik semptom göstermediğini, bu dönemde civcivlerde immunosupresyona neden olduğunu ve böylece diğer hastalıklara karşı aşılamalarda başarısızlık ile hastalıklara karşı duyarlılığa neden olan subklinik formda seyrettiğini bildirmiştir (4-8). IBD'nin oluşturduğu immunosupresyon nedeniyle Hemorajik Aplastik Anemi Sendromu, Gangrenöz Dermatitis (9,10), İnklüzyon Cisimcikli Hepatitis (11) gibi hastalıkların oluşumunu arttırdığı rapor edilmiştir. Giambon ve arkadaşları (12) IBD'nin Newcastle ve Marek hastalıklarına karşı yapılan aşılamalarda başarısızlığa neden olduğunu bildirirken Köküuslu ve arkadaşları (13) bir günlük iken IBDV ile enfekte edilen civcivlerde inokülasyondan 5-10 gün sonra Newcastle aşısı uygulandığında, gammaglobulin oluşumunun tam olarak engellenmediğini bildirmişlerdir. IBD ayrıca *Eimeria tenella* gibi paraziter hastalıklara karşı duyarlılığı da arttırmaktadır (14,15). Gumboro Hastalığı ile ikili enfeksiyon denemeleri ilk kez Cho tarafından Marek Hastalığı ile yapılmış, ikili enfeksiyon oluşturulan civcivlerde Marek Hastalığı'nın daha şiddetli seyrettiği rapor edilmiştir (16). IBD'de özellikle kandaki Ig A seviyesinde önemli düşüşler görülür (17). Ig M seviyesinde enfeksiyondan sonra önemli ölçüde düşme, Ig G seviyesinde ise önce düşme, 1 hafta sonra ise yükselme bildirilmiştir (18).

IBDV Birnavirus familyasına bağlı çift segmentli, çift sarmallı, zarfsız, ikozohedral yapıda 58-60 nm. boyutlarında bir RNA virusudur (19,20). Virusun Serotip 1 ve Serotip 2 olmak üzere iki ayrı serotipi vardır (21). Bu serotipler arasında ve serotiplere bağlı subtipler arasında antijenik açıdan önemli farklar bulunmaktadır (22). IBDV dış etkenlere çok dayanıklı bir virustur, pH 12'de inaktive olurken pH 2'den etkilenmez; 56 °C'de 5 saat tutulduğunda canlılığını kaybetmediği görülmüştür. Virusun %0,5 fenolde 30 °C'de 1 saat tutulduğunda canlı kaldığı, fakat %0,5 formalinde 6 saat tutulduğunda enfektivitesini önemli ölçüde kaybettiği bildirilmiştir.

Virus %0,5 kloramin'de 10 dakikada ölür. Bu dirençli yapısı nedeniyle, virus temizlenmiş ve dezenfekte edilmiş kümeslerde bile canlılığını korur (23).

IBD'de inkubasyon süresi oldukça kısadır ve deneysel enfeksiyonlarda bu süre 36 saate kadar inebilir (24). Klinik olarak hasta civcivlerde ilk önce beyazımsı renkli ve sulu bir ishal ile anüs etrafındaki tüylerin üriner materyal ile kirlenmesi görülür. Bunu iştahsızlık, depresyon, titreme, bitkinlik ve ölüm takibeder (3). Nekropside başlıca ve en belirgin lezyon bursa Fabricius'un büyümesidir, organ normal boyutlarının iki katı büyüklüğe ulaşır. Bursa Fabricius ödemli, hemorajik ve kırmızı renkli görülür. Ödem ve hiperemi özellikle 2. günde belirginleşir. Histopatolojik olarak ilk değişiklikler 36. saatte medullar bölgedeki lenfositlerde dejenerasyon ve nekroz şeklinde gözlenir. Dejenerasyon nükleusta büzüşme ve sitoplazmada yağ damlacıkları birikimi ile karakterizedir. Makrofajların sitoplazmalarında piknotik lenfosit çekirdeklerinin kalıntıları bulunur. İnokulasyondan 48 saat sonra etkilenen folliküllerin meduller bölgelerindeki genç lenfositler kaybolur. Kortekste lenfosit nekrozu bölgeleri ve nekroze lenfositlerin fagositozu görülür. Kortikomedüller bölgedeki epitel katta mitotik aktivite artar ve bu bölgede önceleri plazmablastlar daha sonra ise plazmasitler bulunur. İnokulasyondan 2-3 gün sonra değişiklikler bursa Fabricius'taki bütün lenfoid folliküllere yayılır. Şiddetli ödem, hiperemi ve belirgin heterofil infiltrasyonu bursal ağırlık artışına neden olur (25).

IBDV ile yapılan immunofloresan çalışmalarında, virusun lenfosit, makrofaj ve retikuloendotelial hücrelerde ve mutlaka sitoplazma içinde bulunduğu çekirdekte floresan saptanmadığı bildirilmiştir (26,27). Virus partikülleri genellikle çekirdeğin çevresinde bir halka gibi yerleşirken, bursal makrofajlarda hücre membranı boyunca yerleşir (27). IBD'de immunofloresan tekniğinin formaldehitte tespit edilmiş parafin kesitlerde bile kullanılabileceği bildirilmiştir (28).

Histopatolojik olarak timustaki lezyonlar inokulasyondan 2 gün sonra görülmeye başlar. Makroskobik değişiklik görülmezken mikroskobik olarak korteksin iç kısımlarındaki bazı lenfositlerde nükleer kromatinin yoğunlaştığı gözlenir. Bu değişiklikler iki haftalıktan küçük civcivlerin inokulasyonlarında gözlenmez (29).

Nekropside dalağın hafif büyümüş olduğu görülebilir. Genellikle yüzeyinde dağınık şekilde gri renkli küçük odaklara rastlanır (23). Histolojik olarak dalakta erken dönemlerde arterlerin çevresindeki retiküler hücrelerde hiperplazi şekillenir (24,25,30). Deneysel enfeksiyonlarda karaciğerde inokülasyondan 3 gün sonra çoğunluğu perivasküler olan, multifokal periportal lenfoid hücre birikimleri görülür (23,31). Histolojik olarak böbreklerde konjesyon ve epitel hücrelerinde dejenerasyon gözlenebilir (30). Deneysel enfeksiyonlarda inokülasyondan 3 gün sonra enfekte civcivlerin böbreklerinde arasıra perivasküler lenfoid hücre birikimleri görülür. Bazen ödem, tubuler nekroz ve urat kristallerine rastlanabilir (31). Göğüs ve but kaslarında konjesyon ve hemorajilere rastlanır (30,32). Histolojik olarak kas fibrillerinde dağılma, çizgilenmenin kaybolması, hiyalinizasyon ve ayrılmalar görülür. Bu durum bazı hasta civcivlerin kalplerinde de gözlenir (33). Harder bezi genellikle normal görülür. Az sayıdaki olaylarda lenfoid odaklarda nekroz ile piknotik hücrelere rastlanabilir. Nadiren lökosit infiltrasyonu şekillenir. Enfekte civcivlerin sekal tonsillerindeki lenfoid odaklarda bazı lenfoid hücrelerin kaybolduğu görülür. Bazı olaylarda makrofaj infiltrasyonları, kriptlerde nekrotik materyal ve heterofiller bulunur. Bazen lenfoid odaklarda hiperplazi de gelişebilir (31). Akciğerlerde ve bağırsakların lamina propriasında mononükleer fagosit sisteminin aktivasyonu görülür (33).

IBDV ile enfekte edilen bir günlük civcivlerin periferal kanlarındaki lenfosit sayısı, kontrol civcivlerine göre önemli ölçüde düşüktür. Periferal kandaki B lenfosit sayısının azalması nisbi olarak T lenfosit sayısının artmasına sebep olur (34). IBDV'nin doğal öldürücü hücre (*Natural killer cell*) aktivitesinde, mononükleer fagositik aktivitede ve gecikmiş tip hipersensitivite reaksiyonlarında önemli bir değişikliğe neden olmadığı bildirilmiştir. Ayrıca IBDV ile enfekte hayvanlarda kandaki T hücrelerinde CD₄ ve CD₈ subpopulasyonu normaldir (35).

REOVİRUS ENFEKSİYONLARI

Reovirus genusundaki viruslar kanatlı ve memeli reovirusları olmak üzere iki gruba ayrılır (36,37). Kanatlı reoviruslarıyla yapılan çalışmaların çoğu

bunların tenosinovitis oluşumundaki rolleri üzerine olduğu halde (38-45), diğer birçok hastalık olayına karıştıklarına dair yayınlar da mevcuttur (46-52).

Reoviruslar zarfsız, ikozahedral simetrik ve çift kapsit yapısına sahip viruslardır. Virus partikülleri yaklaşık 75 nm. çapındadır, nükleik asit olarak RNA içerirler (44). Kanatlı reoviruslarının oluşturdukları sendromlar çeşitli isimlerle adlandırılır. Tüylene problemlerinin dikkati çektiği olaylar "*helikopter civciv*", femur başında dejenerasyonların görüldüğü olaylar "*femur başı nekrozu*", ensefalomalasinin bulunduğu olaylar "*deli civciv hastalığı*", gelişme geriliği gözlenen olaylar "*stunting sendrom*", proventriküler hiperplazinin dikkati çektiği olaylar "*enfeksiyöz proventrikülitis*", bacak derisinin soluk olduğu olaylar "*soluk civciv sendromu*", barsaklarda kısmen sindirilmiş gıda ve tuğla kırmızısı renkte ishalin bulunduğu olaylar "*malabsorbsiyon sendromu*" şeklinde adlandırılır (53).

Kanatlı reovirusları tarafından oluşturulan hastalıklar başlıca iki grup altında toplanabilir. Bunlardan birincisi tenosinovitis, diğeri ise runting sendromudur.

Tenosinovitis terimi broylerlerin tendo kılıfları ve tendolarındaki patolojik değişiklikleri tanımlamak ve bu lezyonları *Mycoplasma synoviae*'nin oluşturduğu enfeksiyöz sinovitisten ayırt etmek için kullanılmıştır (36). Tenosinovitisli civcivlerde görülen en önemli klinik semptom, şiddeti değişen derecelerde olan topallık ve bacaklarda kuvvetsizliktir. Ayak tabanlarında hafiften şiddetliye kadar değişen derecelerde şişkinlik görülür (41,42). Nekropside diz ekleminde görülen ilk bulgu sinoviyal membran ve digital fleksor tendo kılıfındaki peteşiyel kanamalardır (43). Klinik olarak şişkinlik görülen bacaklardaki tendolarda ödem ve diz eklemi altında veya civarında ekleme yapışma görülür (41,45). Deneysel olarak ayak tabanı yoluyla oluşturulan enfeksiyonlar, ağız yoluyla yapılan enfeksiyonlardan daha şiddetli tenosinovitis oluşturur (41,54,55). Histolojik olarak gastrokinemiyus tendosunun iç tabakalarında vakuolizasyon, sinoviyal hücreler ve tendo kılıflarındaki fibroblastlarda hiperplazi şekillenir. Bu değişikliklerin ardından diffuz mononükleer hücre infiltrasyonları görülür (43). Ağız yoluyla inokülasyondan 7,5 hafta sonra tendo

kılıflarında kronik fibrozis ile fibröz dokunun tendo içlerine kadar yayıldığı ve ankilozlarla hareketsizliğe yol açtığı bildirilmiştir (38)

Runting sendrom; enfeksiyöz stunting (52,56-63), Stunting sendrom (64-67) ve malabsorbsiyon sendromu (48,49,51) gibi değişik adlarla tanınan bir hastalıktır. Hastalıklı broyler sürülerinde görülen ilk klinik semptom büyümenin gerilemesidir (36,52,56). Deneysel çalışmalarda bu gerileme 4 günlük civcivler de bile görülebilir ve 1-2 hafta arasında açıkça farkedilecek kadar belirginleşir. Cüce broylerlerin karkaslarının çoğu büyüklüklerine göre iyi etlenmiş gibi görünür, fakat karın bölgeleri şişkinlik gösterir. Karın derisi yüzüldüğünde şişkin bağırsak halkalarının karın duvarını basınç altında bıraktığı dikkati çeker. Sindirim sistemindeki anormallikler karkas açılır açılmaz gözlenir. Bağırsaklar tamamen şişkin ve soluk renklidirler, son kısımlarında fazla miktarda sindirilmemiş gıda bulunur ve sekum köpüklü materyal ile doludur (52). Bazı salgınlarda pankreasta atrofi görüldüğü bildirilmiştir. Pankreasta histolojik değişiklikler 8 gün kadar erken bir sürede görülebildiği halde makroskobik bozukluklar genellikle 2-3 haftaya kadar görülmez. Hastalıklı civcivlerden alınan pankreaslarda histolojik olarak büyük oranda ekzokrin dokuyu etkileyen, dejenerasyon, atrofi ve fibrozis görülür (52,56). Bursa Fabricius genellikle küçüktür, timusta belirgin atrofi gözlenebilir. Timustaki küçük loblarda korteks ve medulla ayrımı gözlenmez. Bursal değişiklikler folliküllerin küçük olması, medullada lenfositlerin bulunmaması ve epiteliyal hiperplazi şeklindedir (52). Bağırsaklardaki histopatolojik bulgular 2. günden sonra gözlenir. Bunlar Liberkühn kriptlerindeki ve daha hafif olmak üzere villuslardaki enterositlerde dejenerasyon ve nekrozdur (62).

ADENOVİRUS ENFEKSİYONLARI

Adenoviridae familyası kanatlı adenovirusları ve memeli adenovirusları olmak üzere iki büyük gruba ayrılır (68). Kanatlı adenovirusları tavuk (69-71), hindi (72), kaz (73,74), bıldırcın (75-77), güvercin (78,79), yabani kuşlar (80), muhabbet kuşu ve papağanlardan (81,82) izole edilmiştir. Bunların sorumlu oldukları hastalıklar arasında inklüzyon cisimcikli hepatitis (75,83,84), solunum sistemi hastalıkları (69,70,72,85), ayak hastalıkları (69,86,87), nekrotik pankreatitis ve kursak ülserleri

(71), ishal (69), sistemik enfeksiyonlar (77), inklüzyon cisimcikli ventrikülitis (88), inklüzyon cisimcikli pankreatitis (89) ve üriner sistem hastalıkları (90) bulunmaktadır. Adenoviruslar nükleik asit olarak DNA içerirler (69). Adenovirus virionları 60-65 nm çapındaki çekirdeği çevreleyen 252 kapsomerli 70-90 nm. büyüklüğündeki zarfsız ve ikozohedral şekilli yapıdadırlar. Adenoviruslar çekirdekte bazofilik inklüzyonlar oluşturarak çoğalırlar (68).

Tavuklarda adenoviruslar tarafından oluşturulan en önemli hastalıkların başında inklüzyon cisimcikli hepatitis gelir. Inklüzyon cisimcikli hepatitiste hasta hayvanlar genellikle iyi kondüsyonda ve klinik olarak normal görülürler (83,91). Tek tük vakalar halinde depresyon, tüylerde kabarma, terminal koma, anüs etrafının dışkıyla bulaşık olması gözlenebilir (83). Bazen letarji ve sinirsel semptomlar görülür (84). Sarılık seyrek olarak görülen bir semptomdur (91). Inklüzyon cisimcikli hepatitis salgınlarında ölümler genellikle 3. günde pik noktasına ulaşır, iki gün devam eder ve 7. günde azalır. Nekropside en belirgin lezyon karaciğerdedir (83). Karaciğer soluk renkli, şişkin ve yağlı bir görünümündedir. Özellikle lobların uç kısımlarında birleşik nekroz odakları ile subkapsüler kanamalar görülür (75,91,92). Bursa Fabricius atrofik ve kesit yüzü mat bir görünümündedir (91-93). Timus atrofik ve bazı olaylarda kanamalıdır (91-92). Dalak soluk renkli (83) ve genellikle normalden büyüktür (91,94), bazen kanama görülebilir (84). Böbrekler soluk renkli (83,84,92,94), şişkin (83,94) ve bazı olaylarda subkapsüler kanamalıdırlar (83). Olayların çoğunda karaciğerde geniş nekroz alanları ve intralobüler kanamalar görülür (74,84,92-94). Hepatositlerde intranükleer inklüzyon cisimciklerinin görülmesi tipik olarak kabul edilirse de inklüzyonlara olayların sadece %20'sinde rastlandığı bildirilmiştir (93). Fadly ve arkadaşları (11) yaptıkları deneysel bir çalışmada tek olarak Adenovirus verilen gruptaki civcivlerin karaciğerlerinde hiperemi dışında mikroskobik bir lezyon görmediklerini rapor etmişlerdir. Hepatositlerde hafiften şiddetliye kadar değişebilen yağlı dejenerasyon görülebilir ve bu olay hücrelerin sitoplazmasında çok sayıda vakuollerin görülmesi ile tanınır. Daha ilerlemiş olaylarda hücrelerin çekirdeklerinde karyolizis ve karyoreksis gibi regresif değişiklikler şekillenir (93,94). Grimes ve

arkadaşları (84) Adenovirus enfeksiyonlarında safra kanalı hiperplazisi şekillendiğini bildirmişlerdir. Bazı böbreklerde proksimal konvolüt tubullerdeki epitel hücrelerinin sitoplazmalarında küçük sudanofilik vakuolizasyonlar şekillenir (94). Olayların çoğunda bursa Fabricius'ta atrofik değişiklikler vardır ve hemen hemen bütün lenfoid foliküller etkilenmiştir. Medüllada prolifer olmuş retikülüm hücreleri, incelmış olan kortekste ise çok az sayıda lenfosit bulunur (79,83,84,93,94). Dalaktaki lenfositlerde belirgin azalma ve özellikle elipsoid kapillar damarlar etrafındaki retikuloendoteliyal hücrelerde, belirgin proliferasyon görülür (79,83,91). Bağırsaklarda lamina propriyada lenfositlerde hafif artış ve az sayıda makrofaj gözlenir. Olayların bazılarında yaygın peteşiyel kanamalar bulunabilir (94).

REOVİRUS+ADENOVİRUS ENFEKSİYONLARI

Jones ve arkadaşları (55) Reovirus ve Adenovirusun veriliş yolları ve kombine enfeksiyonlarının tenosinovitis oluşumundaki etkilerini inceledikleri bir çalışmada oral olarak Reovirus+Adenovirus verilen civcivlerde 7 hafta sonra tendolarda çok hafif bir şişme şekillendiğini veya hiç görülmediğini bildirmişlerdir. Reovirusun ayak tabanı , Adenovirusun ise oral yolla verildiği hayvanlarda tendolarda çok şiddetli şişme görüldüğü belirtilmiştir. Her iki virusun da ayak tabanı yolu ile birlikte verildiği gruplarda diz eklemindeki tendo kılıflarında ve sinoviyalarda yangısel reaksiyonların oluştuğu; ödem, plazma hücreleri, heterofil ve lenfosit infiltrasyonlarının şekillendiği bildirilmiştir. Reovirusun oral olarak verildiği ikili enfeksiyonlardaki tablo ise daha hafif seyretmiştir (55).

IBDV+ADENOVİRUS ENFEKSİYONLARI

Deneyssel olarak IBDV ve Adenovirus'un oral yolla verildiği civcivlerde inokülasyondan iki gün sonra anoreksi, depresyon ve tüylerde kabarma gibi semptomların görüldüğü bildirilmiştir. Enfekte civcivlerin kontrol civcivlerine göre daha küçük oldukları görülmüştür. İkili enfeksiyonlarda başlıca lezyonlar bursa Fabricius'ta şekillenmiş, inokülasyondan 2, 5 ve 9 hafta sonra yapılan nekropsilerde bursa Fabricius'un kontrol grubundakilere kıyasla küçük olduğu gözlenmiştir (55).

IBDV+REOVİRUS ENFEKSİYONLARI

Reovirus ve IBDV ile oral yolla enfekte edilen civcivlerde inokülasyondan 2-3 gün sonra hafif şiddette ve geçici bir ishal görüldüğü bildirilmiştir. İnokülasyonlardan 10, 16, 22, 28 gün sonra bursa Fabricius'ta atrofi gözleendiği ve bursa/vücut ağırlığı oranının kontrol gruplarına göre önemli ölçüde azaldığı bildirilmiştir. Dalakta büyüme şekillendiği ve bağırsakların köpüklü bir içerikle orta şiddette şişkin oldukları gözlenmiştir. Histopatolojik olarak belirgin lezyonların bursa Fabricius'ta olduğu ve bunların folliküllerde dejeneratif lenfositler, nekrotik kitleler ile heterofil ve makrofaj infiltrasyonları şeklinde olduğu belirtilmiştir. Dalakta beyaz pulpadaki lenfositlerde azalma gözlenmiş, elipsoid kapillar damar etrafındaki retikuloendotelial hücrelerde artış ve heterofil infiltrasyonları dikkati çekmiştir. IBDV ve Reovirus'un tek veya kombine olarak verildiği gruplardaki civcivlerde karaciğerlerde lenfoid odak sayısında artış ve lenfositlerin perivasküler infiltrasyonları gözlenmiştir. IBDV ve Reovirus'un birlikte verildiği civcivlerde ayrıca, hepatositlerde tek hücre nekrozları görüldüğü ve safra kanalı epitellerinde belirgin proliferasyon şekillendiği bildirilmiştir. Dalak ve karaciğer lezyonları IBDV + Reovirus verilen gruplarda, tek olarak Reovirusun uygulandığı gruplara göre daha şiddetli olmuştur. IBDV + Reovirus inokülasyonunun timusta kortekste incleme ve korteks ile medullada değişen derecelerde heterofil infiltrasyonlarına yol açtığı bildirilmiştir (95).

İncelenen literatürlerde üçlü enfeksiyon denemelerine rastlanmamış olması, ülkemizdeki salgınlarda birden fazla etkenin izole edilmesi ve bu etkenlerin başında IBDV, Reovirus ve Adenovirusun olması bu çalışmanın yapılmasına neden olmuştur. Çalışmanın amacı Gumboro Hastalığı Virüsü, Reovirus ve Adenovirusun standart suşları ile tekli, ikili, üçlü enfeksiyonlar oluşturmak ve şekillenen lezyonlara hem kendi aralarında hem de ülkemizdeki saha salgınlardan izole edilen ve her üç virusun da saha suşunu içeren izolatin verildiği gruptaki lezyonlarla karşılaştırmak, elde edilen sonuçlardan teşhise yardımcı kriterler geliştirmektir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Civcivler: Çalışma materyalini 1 günlük, Lohman White ırkı, ticari yumurtacı, erkek, 180 civciv oluşturdu. Civcivler Hastavuk A. Ş.'den temin edildi. Çalışmanın deneysel bölümü Gumboro Hastalığı virusu, Reovirus ve Adenovirusun tekli, ikili, üçlü kombinasyonları, sahadan izole edilen ve üç virusu da içeren saha izolatu ile kontrol grubunun da bulunduğu toplam 9 grup üzerinde yapıldı. Gruplar 20'şer civcivden oluşturuldu. Otuz gün devam eden deney süresince civcivlerin bulunduğu ortamda havalandırma, aydınlatma ve ısıtma işlemleri sürekli kontrol altında tutuldu. Yem ve su ihtiyaçları *ad libitum* olarak karşılandı. İnokülasyonlar 1 günlük civcivlere ağız yoluyla yapıldı ve inokülasyonlardan sonra üçer gün ara ile her gruptan ikişer civcivin nekropsisi yapıldı.

Viruslar: İnokülasyonlarda Gumboro Hastalığı Virusunu olarak Standart D78 suşu, Reovirus olarak standart S1133 suşu, Adenovirus olarak standart Celophelps suşu kullanıldı. Saha suşu olarak Manisa Tavuk Hastalıkları Araştırma ve Aşı Üretim Enstitüsü tarafından yapılan çalışmalarla sahadaki üçlü enfeksiyonlardan izole edilen saha izolatu kullanıldı. Bütün virus suşları ve saha izolatu Manisa Tavuk Hastalıkları Araştırma ve Aşı Üretim Enstitüsü'nden temin edildi. Bunlar 1 ml.'lik vialler içerisinde dondurulmuş olarak getirilerek inokülasyon yapılana kadar derin dondurucuda (-40 °C'de) saklandı. Standart virus suşlarına herhangi bir işlem uygulanmadı. Saha izolatu sekonder bakteriyel bulaşmaları önlemek için inokülasyondan önce soğutmalı santrifüjde +4 °C'de, 5000 devirde, 30 dakika santrifüj edildi (64). Üstte kalan kısmı alınarak 10000 IU/ml penisilin (Kristalize Penicillin G Potasyum, İ. E. Ulagay) ve 10 mg. Streptomisin (Strep-deva, Deva Holding A. Ş.)

katıldı (38). Virus titrasyonları Manisa Tavuk Hastalıkları Araştırma ve Aşı Üretim Enstitüsü'nce yapıldı (Tablo 1).

Tablo-1: Virus Suşları ve Titreleleri

Virusun Grubu	Virus Suşu	Virus Titresi
Gumboro Hastalığı Virusu	Standart D78	1.26x10 ⁷ /ml TCID ₅₀ *
Reovirus	Standart S1133	10 ⁵ /ml EID ₅₀ **
Adenovirus	Standart Celo-phelps	10 ⁵ /ml EID ₅₀
Saha İzolatı	Üçlü saha suşu	10 ⁴ /ml EID ₅₀ Gumboro Hast. Vir.

* Doku kültürü enfektif doz (Tissue Culture Infective Dose-TCID)

** Embriyo enfektif doz (Embryo Infective Dose-EID)

DeneySEL Düzenek: Çalışmanın deneysel kısmı Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirildi. Cıvıvler deney süresince gruplar halinde ayrı ayrı bölmeler içerisinde tutuldu. Bölmeler 1x1m. boyutlarında kare şeklinde çakılmış çıtalara, petek şeklindeki tel örgülerin gerilmesi ve bunların kenar olarak kullanılması suretiyle her grup için 1m²'lik alan hesaplanarak oluşturuldu. Tel örgüler bölmelerdeki sıcaklığı korumak amacıyla birkaç kat yağlı parşomen kağıdıyla kaplandı. Bölmelerin konulacağı odalar bir hafta öncesinden temizlenip havalandırma, aydınlatma ve su tertibatları kontrol edildi. Giderler ve kapı altlarındaki boşluklar kapatıldı. Bölmeler odalara yerleştirildikten sonra, tabanları 5 cm. kalınlığında tozsuz odun talaşı ile kaplandı. Bölmelerin üst kısmına iki köşeyi birleştirecek şekilde çapraz bir çita çakılarak çitanın ortasına 100 watt'lık ampuller yerleştirildi. Ampullerin yükseklikleri tam altlarındaki bölgede ısı 32 °C olacak şekilde ayarlandı (96). Sıcaklığı ampullerin altındaki bölgede yoğunlaştırmak için 35 cm. çapında daire şeklinde kesilmiş mukavvaların bir yüzeyi alüminyum folyo ile kaplanarak yansıtıcı yüzey oluşturuldu. Mukavvalar daha sonra parlak yüzü aşağıya gelecek şekilde koni şekline getirilerek ampullerin üst kısmına tutturuldu. Odaların ısıtılmasında 1 m. uzunluğunda çubuk şekilli radyanlar kullanıldı.

Her bölmeye bir yemlik, bir suluk ve sıcaklık değişimlerini de gösteren termometreler yerleştirildi. İlk hafta 31-35 °C'ye ayarlanan çevre ısısı daha sonra kademeli olarak azaltılarak 18 °C'de sabit tutuldu (96). Karışıklıkları önlemek için her gruba ayrı renk ve şekildeki etiketler hazırlanarak üzerlerine civiv numaraları yazıldı ve bölmelerin yanına bırakıldı (Resim 1). Deney süresince yeterli olacak yem miktarı hesaplanarak C. P. Yem A. Ş.'den temin edildi. Deney sırasındaki muhtemel bulaşmaları önlemek amacıyla her grup için yeterli miktarda eldiven hazırlandı ve bölmelerin yanına konuldu. Deney süresince civcivlere yem, su verilmesi gibi işlemlerde ve civcivlerin manupilasyonunda o grup için ayrılmış olan eldivenler kullanıldı. Bu işlemlerden sonra odaların zemini sönmemiş kireç serpilerek dezenfekte edildi. Ayrıca bir miktar sönmemiş kireç yayvan bir kap içerisinde giriş kapısı önüne yerleştirildi.

Gruplar	Kullanılan Etiketler
Gumboro Hastalığı	
Reovirus	
Adenovirus	
Gumboro+Reovirus	
Gumboro+Adenovirus	
Reovirus+Adenovirus	
Gumboro+Reovirus+Adenovirus	
Saha İzolati	
Kontrol	

Resim-1: Grupları ayırtmek için kullanılan etiketler.

Civcivler getirilmeden önce bütün lamba ve radyanlar yakılarak ortam ısı ve bölmelerin sıcaklığı gerekli düzeye getirildi, her bölmeye rastgele 20 civciv konularak bir süre ortama uyum sağlamalarına çalışıldı. Daha sonra bölmelerinden çıkarılan civcivler inokülasyonları yapılarak tekrar bölmelerine bırakıldılar. İnokülasyondan önce ve 2 saat sonrasına kadar civcivlere yem verilmedi. Bütün inokülasyonlar oral yolla ve Tablo 1'deki virus suşları kullanılarak yapıldı. İnokülasyonlarda gruplara uygulanan virus miktarları Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo-2: İnokülasyonlarda Verilen Virus Miktarları

Gruplar *	D78	S1133	Celo-phelps	Saha	Toplam (ml)
G	0.4				0.4
R		0.3			0.3
A			0.3		0.3
GR	0.4	0.3			0.7
GA	0.4		0.3		0.7
RA		0.3	0.3		0.6
GRA	0.4	0.3	0.3		1
S				0.3	0.3
K					

*G : Sadece Gumboro Hastalığı Virüsü (GHV), R : Sadece Reovirus, A : Sadece Adenovirus, GR : GHV+Reovirus, GA : GHV+Adenovirus, RA :Reovirus+Adenovirus, GRA : GHV+Reovirus+Adenovirus, S : Üçlü saha izolati, K : Kontrol grubu.

İnokülasyondan 3 gün sonra ve takiben üçer günlük aralarla her gruptan 2 civciv ayrılarak dekapite edildi (24). Civciv numaraları ve kesim günleri Tablo 3'de

gösterilmiştir. Dekapite edilen civcivlerin kan frotileri ve ardından nekropsileri yapıldı. Kan frotileri havada kurutulduktan sonra 5 dakika metil alkolde tespit edildi. Frotiler daha sonra Wright-Giemsa boyası ile boyandı (97). Bursa Fabricius'ların bir bölümünden sürme preparatlar hazırlandı. Preparatlar havada kurutulduktan sonra metil alkolde tespit edilip modifiye Hematoxylin-Eosin (M.H.E.) ile boyandı (98). Nekropside alınan dokular %10'luk tamponlu formaldehitte tespit edildi ve rutin işlemlerden geçirilerek parafinde bloklandı. Mikrotom ile 5 µ kalınlığında kesilen dokular Harris Hematoxylin ve Eosin (H.E.) ile, gerektiğinde de özel boyalarla boyanarak ışık mikroskobunda incelendi (99).

Reizolasyon: Nekropsiler sırasında alınan ve derin dondurucuda saklanan bursa Fabricius örnekleri özel kaplar ve buz içerisinde Manisa Tavuk Hastalıkları Araştırma ve Aşı Üretim Enstitüsü'ne götürüldü. İnokülasyonlardan 3 ve 6 gün sonra alınan bütün deney grupları (G, R, A, GR, GA, RA, GRA ve S) ve kontrol grubuna (K) ait bursa Fabricius örnekleri laminar flow kabin içerisinde ve steril aletler kullanılarak homojenize edildikten sonra, steril PBS ile sulandırıldı ve antibiyotik katıldı, daha sonra -41°C'de üç kez dondurulup çözüldü. Böylece virus içeren hücrelerin parçalanması ve virusların sıvıya geçmesi sağlandı. Bu süspansiyon sıvılarından 0,2 ml. alınarak 10 günlük canlı SPF embriyolu tavuk yumurtalarının koriyo allontoik membranına ekildi. Yumurtalar 37°C'de etüve konuldu, 7 gün boyunca sabah ve akşam olmak üzere günde iki kez canlılık kontrolleri yapıldı. Ölenler +4°C'de saklandı. Reizolasyon çalışmasında her grup için 10'ar tane olmak üzere toplam 90 adet SPF embriyolu tavuk yumurtası kullanıldı. Yedinci gün sonunda ölen ve canlı kalan embriyoların bulunduğu yumurtalar açılarak amnio allontoik sıvıları toplandı ve embriyolar lezyonların varlığı açısından incelendi. Amnio allontoik sıvılara Agar jel presipitasyon (AGP) testi uygulandı (1).

Skorlama: Bursa Fabricius lezyonları şiddetlerine göre 0 ile +4 arasında skorlandı. Skorlamada "0" normal görünümü belirtirken, "+4" şiddetli lezyonların bulunduğu durumlar için kullanıldı. Henry ve arkadaşlarının (100) klinik Gumboro

Hastalığı için yapmış olduğu skorlama bizim çalışmamız için modifiye edilerek temel alındı.

İstatistik Hesapları: Skorlanan bursa Fabricius lezyonlarından elde edilen sonuçların U. Ü. Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı'nda istatistik hesapları yapıldı. Hesaplamada Kruskal-Wallis Nonparametrik testi kullanıldı. Gruplar arasındaki farkların analizi ise Dunn's Multiple Comparisons testi ile yapıldı. Grupların ortalamaları ve gruplar arasındaki P değerleri hesaplandı (101). Bursa Fabricius lezyon şiddetlerinin ortalamaları grafik haline getirildi.

Kan tablosu bulgularının istatistik analizi Tukey-Kramer Multiple Comparisons testi ile yapıldı. Grup ortalamaları ve gruplar arasındaki P değerleri hesaplanarak sonuçlar grafik şeklinde sunuldu (101).

Tablo-3: İnokülasyondan sonraki kesim günleri ve civiv numaraları

Gruplara Göre Civiv Numaraları

Kesim Günleri *	G	R	A	GR	GA	RA	GRA	S	K
3. Gün	G1-G2	R21-R22	A41-A42	GR61-GR62	GA81-GA82	RA101-RA102	GRA121-GRA122	S141-S142	K161-K162
6. Gün	G3-G4	R23-R24	A43-A44	GR63-GR64	GA83-GA84	RA103-RA104	GRA123-GRA124	S143-S144	K163-K164
9. Gün	G5-G6	R25-R26	A45-A46	GR65-GR66	GA85-GA86	RA105-RA106	GRA125-GRA126	S145-S146	K165-K166
12. Gün	G7-G8	R27-R28	A47-A48	GR67-GR68	GA87-GA88	RA107-RA108	GRA127-GRA128	S147-S148	K167-K168
15. Gün	G9-G10	R29-R30	A49-A50	GR69-GR70	GA89-GA90	RA109-RA110	GRA129-GRA130	S149-S150	K169-K170
18. Gün	G11-G12	R31-R32	A51-A52	GR71-GR72	GA91-GA92	RA111-RA112	GRA131-GRA132	S151-S152	K171-K172
21. Gün	G13-G14	R33-R34	A53-A54	GR73-GR74	GA93-GA94	RA113-RA114	GRA133-GRA134	S153-S154	K173-K174
24. Gün	G15-G16	R35-R36	A55-A56	GR75-GR76	GA95-GA96	RA115-RA116	GRA135-GRA136	S155-S156	K175-K176
27. Gün	G17-G18	R37-R38	A57-A58	GR77-GR78	GA97-GA98	RA117-RA118	GRA137-GRA138	S157-S158	K177-K178
30. Gün	G19-G20	R39-R40	A59-A60	GR79-GR80	GA99-GA100	RA119-RA120	GRA139-GRA140	S159-S160	K179-K180

* : Kesim günleri inokülasyondan sonraki günleri belirtir.

BULGULAR

1-KLİNİK SEMPTOMLAR:

Gumboro Hastalığı Grubu (G) : Sadece Gumboro Hastalığı Virusu inoküle edilen bu grup inokülasyondan 3 gün sonrasına kadar klinik olarak normal bir görünümdeydi. Üçüncü günde civcivlerin bazılarında (8 *civciv*) hafif şiddette ishal bulunduğu dikkati çekti ve iki gün kadar devam etti. Civcivlerin anüs etrafı beyazımsı renkli sulu kıvamlı bir içerikle bulaşıkta. Bu süre içerisinde civcivlerde hafif bir durgunluk hali gözlemlendi. Altıncı günden deneyin sonuna kadar bu gruptaki hayvanlarda herhangi bir klinik semptom ve ölüm gözlemlenmedi.

Reovirus Grubu (R) : Sadece Reovirus inoküle edilen grupta inokülasyondan iki gün sonrasına kadar klinik bulgu gözlemlenmedi. İkinci günden sonra bazı civcivlerde (12 *civciv*) hafif şiddette bir ishal gözlemlendi. İshal, iki gün kadar devam etti. Bu süre içerisinde ishalleri civcivlerde hafif bir durgunluk hali dikkati çekti. Bu gruptaki civcivlerde ayrıca 15. günden sonra, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında hafif şiddette gelişme geriliği gözlemlendi. Deney süresince bu gruptaki hayvanlarda ölüm gözlemlenmedi.

Adenovirus Grubu (A) : Sadece Adenovirus inoküle edilen grupta inokülasyondan sonraki ikinci günde iki civcivde iki gün kadar devam eden hafif şiddette bir ishal gözlemlendi. İnokülasyondan sonraki 2-5. günler arasında civcivlerde durgunluk hali izlendi. Deney süresince başka klinik semptom ve ölüm görülmedi.

Gumboro Hastalığı + Reovirus Grubu (GR) : Gumboro Hastalığı Virusu ve Reovirusun birlikte verildiği bu grupta inokülasyonlardan 3 gün sonra bütün civcivlerde hafif şiddette bir ishal tablosu gözlemlendi. Civcivlerin anüs etrafları koyu

renkli, sulu kıvamlı bir dışkı ile kirlenmiş haldeydi. İshal 5 gün kadar devam etti. Bu süre içerisinde civcivlerde hafif bir durgunluk gözlemlendi. Yem tüketiminde bu süre içerisinde bir miktar düşme gözlemlendi. Dokuzuncu günden sonra gruptaki civcivlerin durumları normale döndü ve deney süresince ölüm gözlemlenmedi.

Gumboro Hastalığı + Adenovirus Grubu (GA) : Gumboro Hastalığı Virusunu ve Adenovirus'un birlikte verildiği bu grupta inokülasyondan iki gün sonra bütün civcivlerde hafif şiddette bir ishal görüldü. Bu gruptaki civcivler diğer gruptakilerle, özellikle kontrol grubu ile, karşılaştırıldığında oldukça durgundular ve bu durum deney süresince devam etti. Civcivlerin yem ve su tüketimi diğer gruplara göre oldukça azdı. Bu gruptaki bir civcivde (GA86) şiddetli ishal, gelişme geriliği, tüylerde kabarma ve depresyon gözlemlendi (Resim 2). Deney süresince ölüm şekillenmedi.



Resim-2: Deney grubundaki civcivlerde ishal tablosu (GA86)

Reovirus + Adenovirus Grubu (RA) : Reovirus ve Adenovirus'un birlikte verildiği bu grupta inokülasyondan üç gün sonra bütün civcivlerde çok hafif bir ishal gözlemlendi ve iki gün kadar devam etti. Civcivlerin çoğunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında değişik derecelerde gelişme geriliği dikkati çekti (Resim 3). Bu bulguların dışında klinik semptom ve ölüm gözlemlenmedi.



Resim-3: Deney grubundaki civcivlerde gelişme geriliği (RA110-K169)

Gumboro Hastalığı + Reovirus + Adenovirus Grubu (GRA) :

Gumboro Hastalığı Virus, Reovirus ve Adenovirus'un birlikte verildiği bu grupta inokülasyondan iki gün sonra bütün civcivlerde hafif şiddette bir ishal gözlemlendi. İshal 4 gün kadar devam etti. Bu süre içerisinde civcivlerde hafif bir depresyon gözlemlendi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında gruptaki civcivlerde hafif bir gelişme geriliği görüldü. Deney süresince ölüm olmadı.

Saha Grubu (S) : Sahadan izole edilen ve üç virusun da saha suşlarını

içeren izolatu verildiği bu grupta inokülasyondan üç gün sonra bütün civcivlerde hafif şiddette bir ishal görüldü. İshal üç gün kadar devam etti. İnokülasyondan sonraki 1 hafta içinde bazı civcivlerde durgunluk ve yem tüketiminde azalma dikkati çekti. Bu gruptaki civcivlerde deney süresince başka klinik semptom ve ölüm gözlemlenmedi.

Kontrol Grubu (K) : Herhangi bir virus verilmeyen bu grupta deney

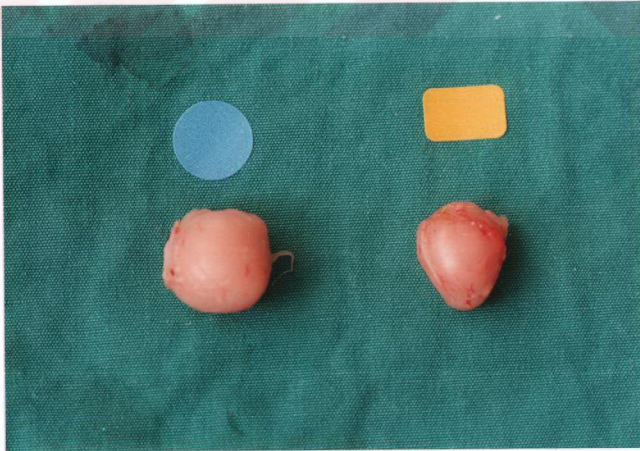
süresince hiçbir klinik semptom gözlemlenmedi. Tek dikkati çeken bulgu bu gruptaki civcivlerin diğer gruplardakilere göre daha hızlı geliştikleri ve yem-su tüketimlerinin daha fazla olduğuydu. Bu grupta da deney süresince ölüm gözlemlenmedi.

2-NEKROPSİ BULGULARI :

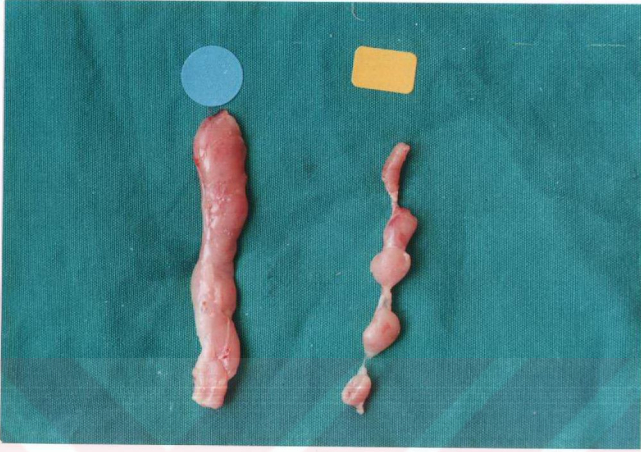
Gumboro Hastalığı Grubu (G) : İnokülasyondan üç gün sonra yapılan nekropside bağırsakların, özellikle sekumun, gazlı bir içerikle dolu ve şişkin olduğu gözlemlendi. Anüs etrafı dışkı ile bulaşıktı. Sarı kese emilmemişti. Diğer organlar normal görünümdeydi. Periyodik olarak üçer gün aralarla yapılan diğer nekropsilerde bursa Fabricius'ta 15-21. günler arasında belirginleşen hafif büyüme dışında makroskopik olarak herhangi bir bulgu gözlenmedi.

Reovirus Grubu (R) : İnokülasyondan sonra yapılan ilk nekropside özellikle sekumda gerginlik ve gazlı bir içerik gözlemlendi. Sarı kese emilmemişti. Bursa Fabricius'larda inokülasyondan sonraki 12-21. günler arasında belirginleşen küçülme görüldü. Deney süresince bu gruptaki civcivlerde makroskopik bir bulgu yoktu.

Adenovirus Grubu (A) : İnokülasyondan üç gün sonra yapılan ilk nekropside bağırsaklarda sulu ve köpüklü bir içerik olduğu görüldü. Sarı kese emilmemişti. Bu grupta bursa Fabricius'larda inokülasyondan sonraki 21-27. günler arasında hafif atrofi dikkati çekti. İnokülasyondan 27 gün sonra nekropsisi yapılan bir civcivde (A57) bursa Fabricius'ta hafif, timusta şiddetli atrofi gözlemlendi (Resim 4-5).



Resim-4: Adenovirus grubunda hafif bursal atrofi (K178-A58)



Resim-5: Adenovirus grubunda şiddetli timik atrofi (K178-A58)

Gumboro Hastalığı + Reovirus Grubu (GR) : İnokülasyondan üç gün sonra yapılan nekropside bağırsaklarda gerginlik ve gazlı içerik gözlemlendi. Deney süresince yapılan nekropsilerde bursa Fabricius'ların kontrol grubundaki civcivlerin bursa Fabricius'larından genellikle daha büyük olduğu görüldü. Bu büyüme 9. günde başlayıp 21. güne kadar devam etti. Bundan sonra bursa Fabricius'ların normale döndüğü dikkati çekti.

Gumboro Hastalığı + Adenovirus Grubu (GA) : İnokülasyondan sonra periyodik olarak yapılan nekropsilerin ilkinde bağırsakların gazlı ve sulu bir içerikle dolu olması dışında bir bulgu gözlenmedi. İnokülasyondan 9 gün sonra yapılan üçüncü nekropside bir civcivin (GA86) oldukça küçük olduğu ve kaslar ile organlarda gelişme geriliği bulunduğu görüldü (Resim 6). İnokülasyondan 12 gün sonra yapılan dördüncü nekropside bir civcivin (GA87) karaciğerinde yaygın kanama sahaları gözlemlendi (Resim 7). Benzeri bulgular inokülasyondan 15 gün sonra nekropsisi yapılan bir civcivde de (GA89) dikkati çekti (Resim 8). Bu gruptaki civcivlerin bursa Fabricius'ları kontrol grubundaki civcivlerin bursa Fabricius'larından büyüktü.

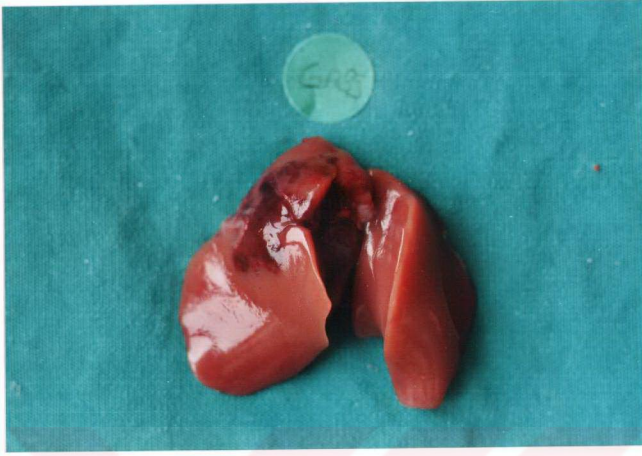
Büyüme 9-18. günler arasında daha belirgindi. Bursa Fabricius'ların 21. günden itibaren küçülmeye başladıkları görüldü.



Resim-6: Gelişme geriliği olan civcivlerin nekropsideki görünümü (GA86-K166)

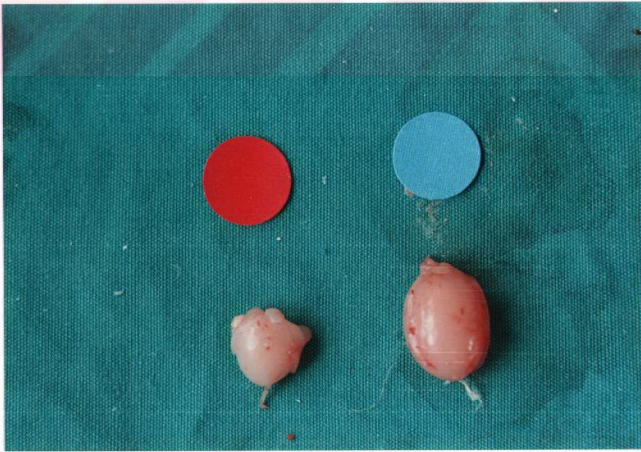


Resim-7: IBDV ve Adenovirusun birlikte verildiği grupta karaciğerde gözlenen kanamalar (GA87).



Resim-8: Aynı gruptan bir başka civcivde karaciğerin görünümü (GA89).

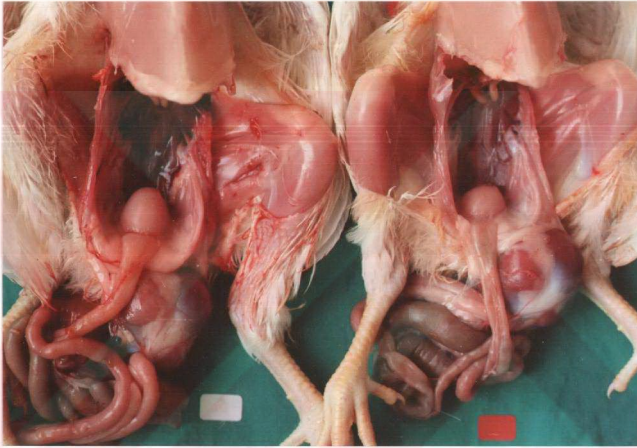
Reovirus + Adenovirus Grubu (RA) : İnokülasyondan sonra üçüncü günde yapılan nekropside bağırsaklarda gazlı ve sulu bir içerik gözlemlendi. Gruptaki civcivler vücut ağırlığı bakımından kontrol grubundaki civcivlerden daha hafiftiler. Bursa Fabricius'larda kontrol grubuna göre küçülme gözlemlendi (**Resim 9**). Küçülme 9. günden itibaren başladı ve deneyin sonuna kadar devam etti.



Resim-9: Reovirus ve Adenovirus verilen grupta bursa Fabricius'un görünümü (RA110-K169).

Gumboro Hastalığı + Reovirus +Adenovirus Grubu (GRA) :

İnokülasyondan üç gün sonra yapılan ilk nekropside bağırsakların gazlı ve köpüklü bir içerikle dolu olduğu gözlemlendi. Bursa Fabricius'lar kontrol grubu yada tekli ve ikili Gumboro Hastalığı verilen gruplarla karşılaştırıldığında büyük olarak görüldü (**Resim 10**). Büyüme 9-27. günler arasında daha belirgindi. Diğer organlar makroskopik olarak normaldi.



Resim-10: IBDV+ Reovirus+Adenovirusun birlikte verildiği grup (sol) ile sadece IBDV verilen gruptaki (sağ) bursa Fabricius'ların görünümü (GRA133-G13).

Saha Grubu (S) : İnokülasyondan sonra yapılan ilk nekropside bağırsaklarda gazlı bir içerik bulunması dışında bir bulgu gözlemlenmedi. Deney süresince bursa Fabricius'ların kontrol grubuna göre daha büyük olduğu görüldü. Bu büyüme özellikle 9-21. günler arasında daha belirgindi. Diğer organlar normal görünümdeydi.

Kontrol Grubu (K) : Deney süresince bu grupta makroskopik olarak herhangi bir bulgu gözlemlenmedi.

3-MİKROSKOBİK BULGULAR:

Bütün gruplarda en şiddetli lezyonlar bursa Fabricius'larda gözlemlendi. Bursa Fabricius'lardaki lezyonların şiddeti "0" ile "+4" arasında skorlanarak gruplar arası karşılaştırmalar yapıldı. Skorlamada;

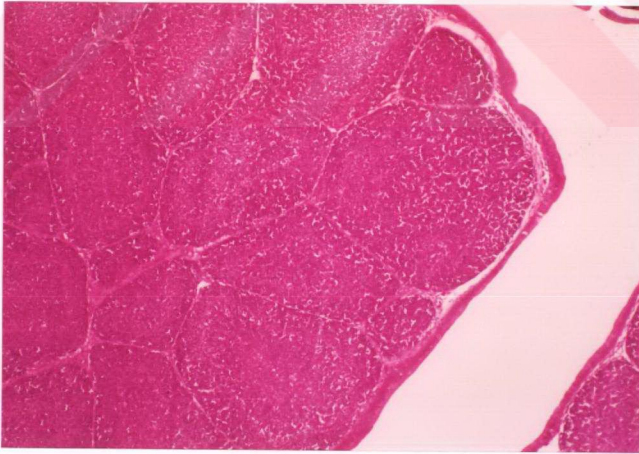
0-Normal (Resim 11),

+1-Hafif hiperemi ve bir follikülde veya intertisyel dokuda tek tük heterofil infiltrasyonu,

+2-Orta şiddette hiperemi, belirgin ödem ve bazı folliküllerde hafif şiddette heterofil lökosit infiltrasyonu (Resim 12),

+3-Şiddetli hiperemi, yoğun heterofil lökosit infiltrasyonları, bazı folliküllerin medüller bölgelerindeki lenfositlerde piknotik görünüm,

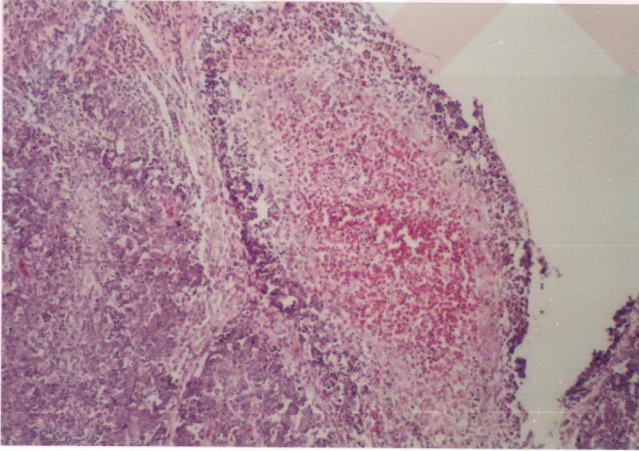
+4-Bir veya daha fazla follikülde nekroz ve atrofi, şeklinde değerlendirildi (Resim 13-14-15).



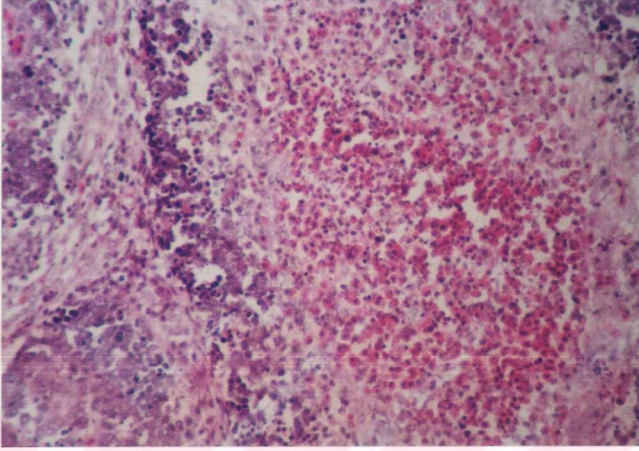
Resim-11: Bursa Fabricius'un normal görünümü (K180) H.E. x100.



Resim-12: Bursa Fabricius'ta hiperemi ve belirgin ödem (G5) H.E. x40 (Skor +2).



Resim-13: Bursal folliküllerde nekroz ve heterofil infiltrasyonları (GA93)
H.E. x200 (Skor +4).



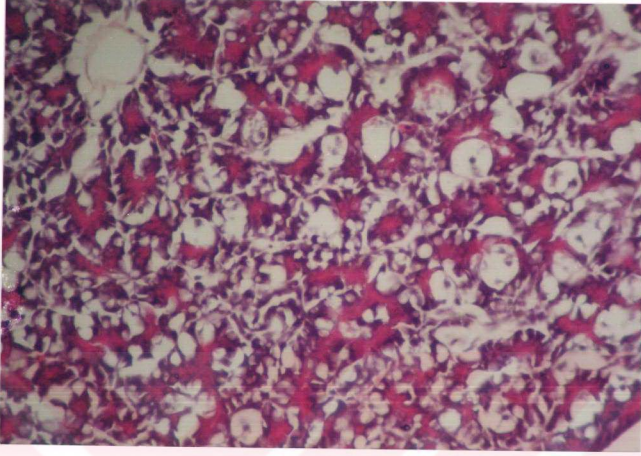
Resim-14:Resim-13'ün büyütülmüş görünümü (GA93) H.E. x400 (Skor +4).



Resim-15: Bursal folliküllerde atrofi (GA85) H.E. x40 (Skor +4).

Gumboro Hastalığı Grubu (G) : Bu gruptaki civcivlerin bursa Fabricius lezyon şiddeti skorları incelendiğinde en şiddetli lezyonun +3 düzeyinde olduğu ve bu şiddetteki lezyona sadece iki civcivde (G10-G19) rastlandığı görüldü. Skorlamada en fazla +1 şiddetinde lezyon vardı ve bu şiddetteki lezyonlar inokülasyondan sonra üçüncü günde yapılan ilk nekropsilerden itibaren gözlemlendi. Bu grupta bursa Fabricius lezyonlarının inokülasyondan sonraki 12-15. günler arasında en şiddetli düzeye ulaştıkları ve daha sonra hafifledikleri dikkati çekti. İnokülasyondan sonraki 18. gün ile deneyin sonuna kadar geçen sürede iki civciv dışındaki bütün civcivlerde bursa Fabricius lezyon şiddetleri +1 düzeyinde seyretti. Bu gruptaki civcivlerde özellikle inokülasyondan sonraki 3-9. günler arasında bağırsaklarda submukozalardaki damarlarda hiperemi ve bu bölgede ödem, propriya mukozada tek tük heterofil lökosit infiltrasyonu ve lamina epitelialiste deskuamasyon ile karakterize akut kataral bir enterit tablosu gözlemlendi. Ayrıca, bu gruptaki civcivlerde inokülasyondan sonraki 12. günden itibaren hafif şiddette akut kataral tipte bir pnömoni tablosu dikkati çekti. Bu gruptaki civcivlerin diğer organlarında patolojik bir bulgu görülmedi.

Reovirus Grubu (R) : Bu gruptaki civcivlerin bursa Fabricius'larında da en şiddetli lezyonların +3 düzeyinde olduğu görüldü. Bu şiddetteki lezyonlara üç civcivde (R24, R27 ve R33) rastlandı. Bu gruptaki civcivlerde en fazla +1 düzeyinde lezyon gözlemlendi. Bu şiddetteki lezyonlara 11 civcivde rastlandı. Lezyonların ilk nekropsiden itibaren şiddetlendiği ve inokülasyondan sonraki 21. güne kadar şiddetli seyrettiği, daha sonra ise hafiflediği dikkati çekti. Bu dönemden sonra bütün civcivlerde lezyonlar +1 düzeyindeydi. Sadece Reovirus verilen bu grupta inokülasyondan sonraki 18. günden itibaren akut kataral pnömoni tabloları görüldü. Bu gruptaki civcivlerde inokülasyondan sonraki 3-12. günler arasında hafif şiddette kataral tipte bir enterit tablosu dikkati çekti. Bir civcivde (R30) pankreasta vakuoler tipte dejenerasyon gözlemlendi (**Resim 16**). Diğer organlar normal görünümdeydi.



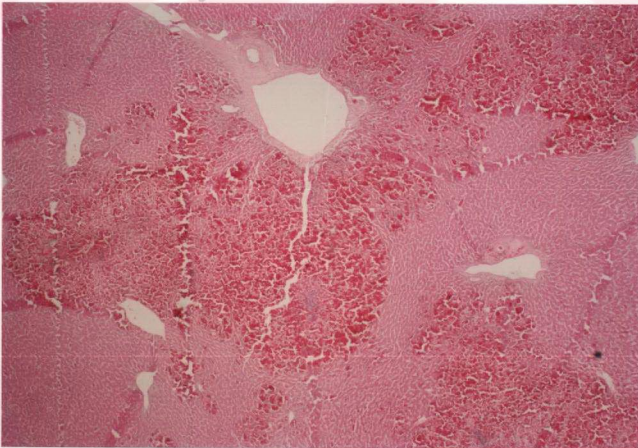
Resim-16: Reovirus verilen grupta pankreasta vakuoler dejenerasyon (R30) H.E. x400.

Adenovirus Grubu (A) : Bu grupta sadece bir civcivde (A54) +4 düzeyinde şiddetli bursa Fabricius lezyonu gözlemlendi. İnokülasyondan sonraki 3. günde +1 düzeyinde olan bursa Fabricius lezyonlarında 15-24. günler arasında şiddetlenme görüldü. Bundan sonra ise lezyonlar tekrar hafifledi. Yirmidördüncü günden sonra bir civcivin dışındaki civcivlerde bursa Fabricius lezyon skorları +1 düzeyinde idi. İnokülasyondan sonraki 3-12. günler arasında hafif şiddette kataral tipte bir enterit tablosu gözlemlendi. Bu gruptaki civcivlerde inokülasyondan sonraki 15. günden sonra akut kataral pnömoni tabloları dikkati çekti. Bunun dışındaki organlarda herhangi bir lezyon görülmedi.

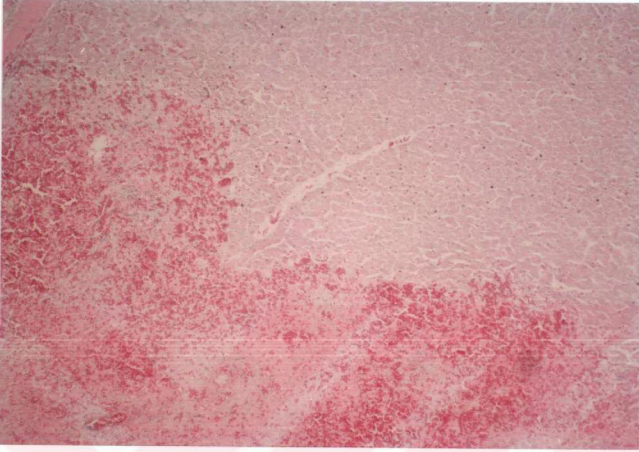
Gumboro Hastalığı+Reovirus Grubu (GR) : İkili enfeksiyon oluşturulan bu gruptaki bursa Fabricius lezyonlarının +2 ile +4 arasında değiştiği gözlemlendi. Bu organda +4 düzeyinde şiddetli lezyonlara üç civcivde (GR65, GR68 ve GR73) rastlandı. Bursa Fabricius lezyonlarının inokülasyondan sonraki 3. günde +2 düzeyinde olduğu, 9-18. günler arasında şiddetlendiği, 21. günden deneyin sonuna kadar ise +2 düzeyinde seyrettiği dikkati çekti. Bu gruptaki civcivlerde ayrıca

inokülasyondan sonraki 9. günden itibaren kataral tipte bir pnömoni tablosu gözlemlendi. İnokülasyondan sonraki 3-12. günler arasında civcivlerde kataral tipte bir enteritis oluştuğu dikkati çekti. Bu gruptaki bir civcivde (GR68) karaciğerde nekroz ve heterofil lökosit infiltrasyonları görüldü.

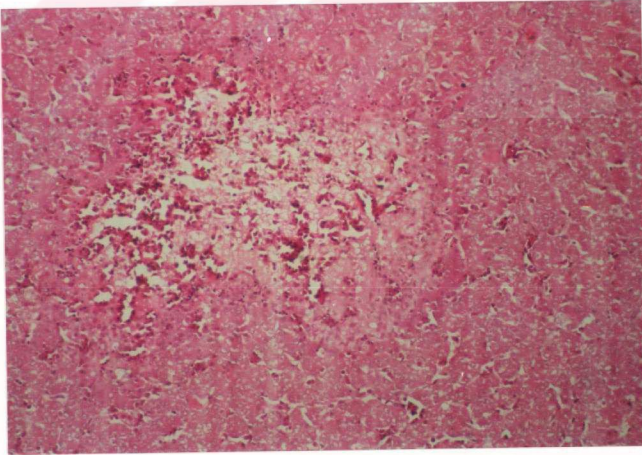
Gumboro Hastalığı+Adenovirus Grubu (GA) : İkili enfeksiyon oluşturulan gruplar arasında en şiddetli lezyonlara bu grupta rastlandı. Bursa Fabricius lezyonlarının +2 ile +4 arasında değiştiği ve +4 düzeyinde lezyonların 5 civcivde (GA82, GA85, GA86, GA92 ve GA93) bulunduğu gözlemlendi. Bu organdaki lezyonların 9-18. günler arasında şiddetlendiği 21. günden deneyin sonuna kadar +2 düzeyinde seyrettiği dikkati çekti. Bursa Fabricius dışında en önemli lezyonlara karaciğerlerde rastlandı. İki civcivde (GA87 ve GA89) karaciğerde yaygın kanama görülürken (**Resim 17-18**), üç civcivde (GA86, GA88 ve GA89) dissemine nekroz odakları (**Resim 19**), bir civcivde ise (GA89) safra kanallarında hiperplazi (**Resim 20**) dikkati çekti. Bu gruptaki civcivlerde ayrıca inokülasyondan sonraki 3-15. günler arasında kataral enterit, 9-12. günler arasında ise kataral pnömoni tabloları gözlemlendi. Bir civcivde (GA86) pankreasta fibrozis dikkati çekti (**Resim 21**). Diğer organlarda patolojik bir bulgu gözlemlenmedi.



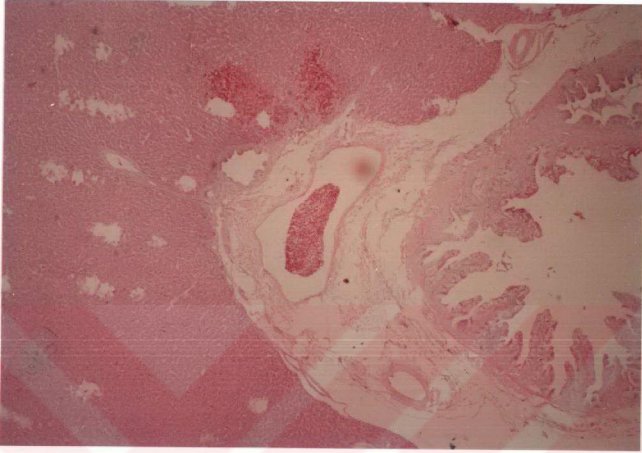
Resim-17: IBDV+Adenovirus verilen grupta karaciğerde kanama (GA89) H.E. x40.



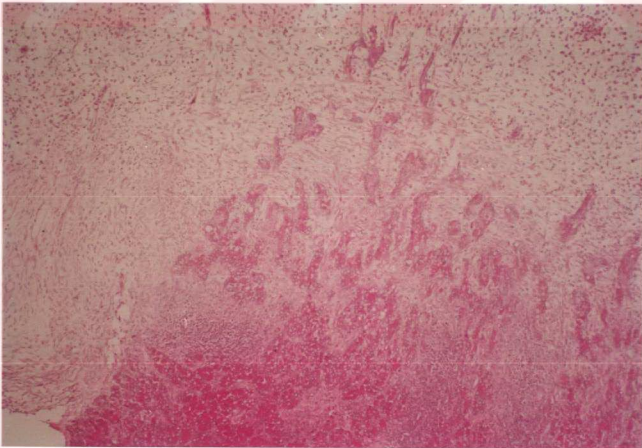
Resim-18: IBDV+Adenovirus verilen grupta karaciğerde kanama (GA89) H.E., x100.



Resim-19: IBDV+Adenovirus verilen grupta karaciğerde nekroz ve kanama odağı (GA86) H.E. x200.

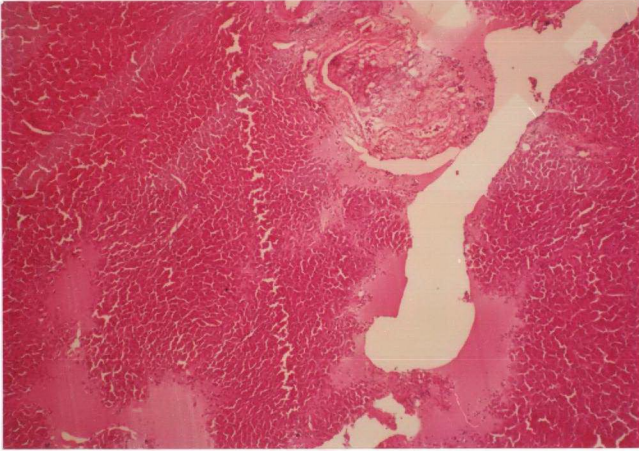


Resim-20: IBDV+Adenovirus verilen grupta safra kanallarında hiperplazi ve kanama (GA89) H.E. x40.



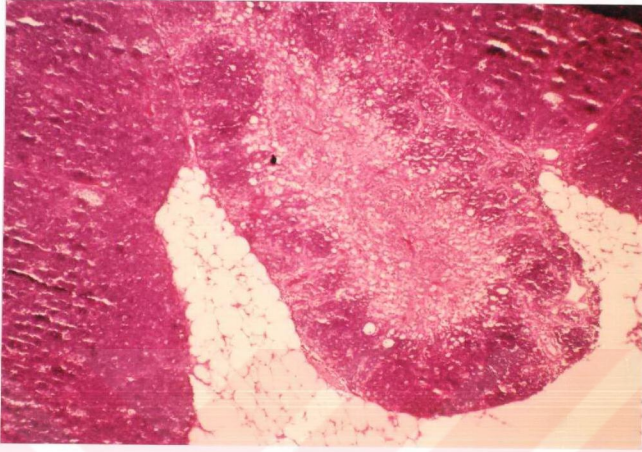
Resim-21: IBDV+Adenovirus verilen grupta pankreasta fibrosis (GA86) H.E. x100.

Reovirus+Adenovirus Grubu (RA) : Bu grupta bursa Fabricius lezyonlarının en fazla +2 şiddetinde seyrettiği (13 civciv) dikkati çekti. En şiddetli lezyonlar +4 düzeyindeydi ve bu düzeydeki lezyonlara üç civcivde (RA108, RA117 ve RA120) rastlandı. Bu grupta inokülasyondan 3 gün sonra +2 şiddetinde başlayan lezyonların 9-15. günler arasında şiddetlendiği dikkati çekti. Bir civcivde (RA113) karaciğerde şiddetli ödem görülürken (**Resim 22**), bir civcivde de (RA107) karaciğerde nekroz gözlemlendi. Bu gruptaki bir civcivde (RA110) pericard üzerinde lenfosit infiltrasyonları ile karakterize nonprulent bir perikarditis dikkati çekti. İki civcivde (RA116 ve RA117) timusta dejeneratif nekrotik değişikliklere (**Resim 23**) rastlandı. Bu gruptaki civcivlerde ayrıca inokülasyonlardan sonraki 12-24. günler arasında kataral pnömoni ve 3-12. günler arasında ise kataral enterit tabloları gözlemlendi. Diğer organlar normal görünümdeydi.



Resim-22: Reovirus+Adenovirus verilen grupta karaciğerde şiddetli ödem (RA113)

H.E. x100.



Resim-23: Reovirus+Adenovirus verilen grupta timusta nekroz (RA116) H.E. x100.

Gumboro Hastalığı+Reovirus+Adenovirus Grubu (GRA) : Bu gruptaki bursa Fabricius lezyon şiddetleri +1 ile +4 arasında değişiyordu. Beş civcivde (GRA123, GRA125, GRA126, GRA127 ve GRA131) +4 düzeyinde şiddetli bursa Fabricius lezyonları görüldü. Bursa Fabricius lezyonlarının üçüncü günde +2 düzeyinde başladığı, 6-21. günler arasında şiddetlendiği ve 24. günden itibaren giderek azaldığı gözlemlendi. Üçlü enfeksiyon oluşturulan bu grupta ayrıca bazı civcivlerin karaciğerlerinde dissemine odaklar halinde küçük nekrozlara rastlandı. Bazı civcivlerde timusta heterofil lökosit infiltrasyonları gözlemlendi. Bunun dışındaki organlar normal görünümdeydi.

Saha Grubu (S) : Bursa Fabricius'larda +4 düzeyinde şiddetli lezyonlara dört civcivde (S151, S152, S153 ve S157) rastlandı. Lezyonların inokülasyondan sonraki üçüncü günde +2 düzeyinde başladığı ve 9-18. günler arasında şiddetlendiği gözlemlendi. İnokülasyondan sonraki 21. günden deneyin sonuna kadar bir civciv dışında lezyonların +2 düzeyinde seyrettiği dikkati çekti. Bu gruptaki civcivlerde inokülasyondan sonraki 12-24. günler arasında kataral tipte pnömoni ve 3-18. günler

arasında kataral enterit tabloları gözlemlendi. İki civcivde (S141 ve S156) karaciğerde nekroz görülürken bazı civcivlerde timusta heterofil infiltrasyonları görüldü.

Kontrol Grubu (K) : Bu gruptaki civcivlerde mikroskopik olarak hiç bir organda lezyona rastlanmadı. Bütün organlar tamamen normal görünümündeydiler.

Skorlamadan elde edilen ve Tablo-4'te gösterilen sonuçların istatistik analizleri U. Ü. Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı'nda yapıldı. Verilere nonparametrik Kruskal-Wallis Testi uygulandı. İstatistik analizin sonucuna göre sadece Gumboro Hastalığı virusu verilen grup (G) ile, sadece Reovirus (R) ve sadece Adenovirus (A) verilen gruplar arasında lezyonların şiddetleri açısından benzerlik gözlenirken $P>0.05$; bu grup ile (G), IBDV+Reovirus verilen grup (GR), Reovirus+Adenovirus verilen grup (RA) ve Saha grubu arasında $P<0.01$ düzeyinde, üçlü enfeksiyon oluşturulan grup ile $P<0.05$ düzeyinde ve IBDV+Adenovirus verilen grup (GA) ile $P<0.001$ düzeyinde önemli fark bulunmuştur. Sadece Reovirus verilen grup (R) ile IBDV+Adenovirus verilen grup (GA) arasındaki fark önemli bulunurken ($P<0.05$); bu grup (R) ile diğer gruplar arasında bursa Fabricius lezyonları bakımından benzerlik bulunmuştur ($P>0.05$). Sadece Adenovirus verilen grup (A) ile IBDV+Reovirus verilen grup (GR), IBDV+Adenovirus verilen grup (GA) ve Saha grubu (S) arasında $P<0.001$ düzeyinde; bu grup ile (A), üçlü enfeksiyon oluşturulan grup arasında $P<0.01$ düzeyinde fark bulunmuştur. İkili enfeksiyon oluşturulan gruplar (GR,GAveRA) hem kendi aralarında hemde üçlü enfeksiyon oluşturulan grup (GRA) ve Saha grubu (S) ile benzer bulunmuştur ($P>0.05$). Üçlü enfeksiyon oluşturulan grup (GRA) ile Saha grubu arasında da benzerlik olduğu saptanmıştır ($P>0.05$). Ayrıca tekli enfeksiyon oluşturulan grupların (G,R,A) ortalamalarıyla ikili (GR, GA, RA) grupların ve üçlü enfeksiyon oluşturulan grubun (GRA) ortalaması arasında benzerlik bulunurken ($P>0.05$); tekli grup ortalamasının, saha grubu ortamasından farklı olduğu görülmüştür ($P<0.001$).

Buna göre tekli enfeksiyon oluşturulan gruplarda şekillenen lezyonların ikili, üçlü ve saha izolatu inoküle edilen gruplardakinden daha hafif seyrettiği ve

gruplar arasındaki farkların önemli olduğu sonucuna varıldı. Bu sonuçlar grafik haline getirildi (Şekil-1).

Tablo-4/a: Bursa Fabricius Lezyon Skorları

C. No*	Skor**	C. No	Skor	C. No	Skor	C. No	Skor	C. No	Skor
G1	+1	R21	+1	A41	+1	GR61	+2	GA81	+2
G2	+1	R22	+2	A42	+1	GR62	+2	GA82	+4
G3	+1	R23	+2	A43	+1	GR63	+2	GA83	+2
G4	+1	R24	+3	A44	+1	GR64	+3	GA84	+2
G5	+2	R25	+1	A45	+1	GR65	+4	GA85	+4
G6	+1	R26	+2	A46	+1	GR66	+2	GA86	+4
G7	+1	R27	+3	A47	+1	GR67	+2	GA87	+2
G8	+2	R28	+1	A48	+1	GR68	+4	GA88	+3
G9	+2	R29	+1	A49	+1	GR69	+2	GA89	+2
G10	+3	R30	+2	A50	+2	GR70	+2	GA90	+2
G11	+1	R31	+2	A51	+1	GR71	+3	GA91	+2
G12	+1	R32	+1	A52	+1	GR72	+2	GA92	+4
G13	+1	R33	+3	A53	+1	GR73	+4	GA93	+4
G14	+2	R34	+2	A54	+4	GR74	+2	GA94	+2
G15	+1	R35	+1	A55	+2	GR75	+2	GA95	+2
G16	+1	R36	+1	A56	+1	GR76	+2	GA96	+2
G17	+1	R37	+1	A57	+1	GR77	+2	GA97	+2
G18	+1	R38	+1	A58	+1	GR78	+2	GA98	+2
G19	+3	R39	+1	A59	+2	GR79	+2	GA99	+2
G20	+1	R40	+1	A60	+1	GR80	+2	GA100	+2

Tablo-4/b: Bursa Fabricius Lezyon Skorları (devamı)

C. No	Skor	C. No	Skor	C. No	Skor	C. No	Skor
RA101	+2	GRA121	+2	S141	+2	K161	0
RA102	+2	GRA122	+2	S142	+2	K162	0
RA103	+2	GRA123	+4	S143	+2	K163	0
RA104	+2	GRA124	+2	S144	+2	K164	0
RA105	+2	GRA125	+4	S145	+2	K165	0
RA106	+3	GRA126	+4	S146	+3	K166	0
RA107	+3	GRA127	+4	S147	+2	K167	0
RA108	+4	GRA128	+3	S148	+1	K168	0
RA109	+2	GRA129	+3	S149	+2	K169	0
RA110	+3	GRA130	+2	S150	+2	K170	0
RA111	+2	GRA131	+4	S151	+4	K171	0
RA112	+2	GRA132	+2	S152	+4	K172	0
RA113	+2	GRA133	+1	S153	+4	K173	0
RA114	+2	GRA134	+2	S154	+2	K174	0
RA115	+2	GRA135	+2	S155	+2	K175	0
RA116	+2	GRA136	+2	S156	+2	K176	0
RA117	+4	GRA137	+2	S157	+4	K177	0
RA118	+1	GRA138	+1	S158	+2	K178	0
RA119	+2	GRA139	+1	S159	+2	K179	0
RA120	+4	GRA140	+1	S160	+2	K180	0

*: C. No= Cıvıv No

**:

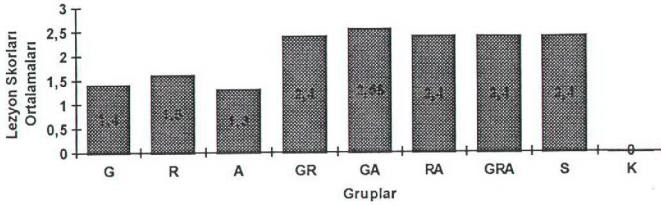
0-Normal,

+1-Hafif hiperemi, tek tük heterofil infiltrasyonu,

+2-Orta şiddette hiperemi, belirgin ödem, hafif heterofil infiltrasyonu,

+3-Şiddetli hiperemi, yoğun heterofil lökosit infiltrasyonu, bazı lenfositlerde piknoz,

+4-Folliküllerde nekroz ve atrofi,

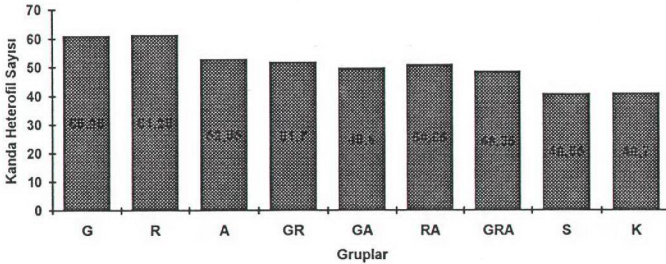


Şekil-1: Lezyon Skorları Ortalamalarının gruplara göre dağılımı.

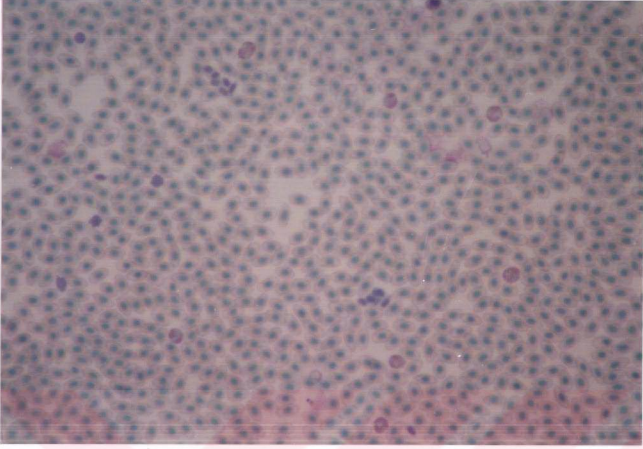
4-KAN TABLOSU BULGULARI:

Nekropsi öncesi alınan kanlardan yapılan frotiler total lökosit sayısı açısından incelendi. Virus inoküle edilen gruplar (G, R, A, GR, GA, RA, GRA ve S) kontrol grubu (K) ile karşılaştırıldığında, bütün deney gruplarında kontrol grubuna göre kanda heterofil sayısının daha fazla bulunduğu gözlemlendi (**Resim 24-25**). Deney grupları arasında kanda en fazla heterofil lökosit Reovirusun tek olarak verildiği grupta (R) rastlandı (Ortalama 61.25). Bunu sırası ile sadece Gumboro Hastalığı Virüsü verilen grup (G) ortalama 60.95; sadece Adenovirus verilen grup (A) ortalama 52.65; IBDV+Reovirus verilen grup (GR) ortalama 51.7; Reovirus+Adenovirus verilen grup (RA) ortalama 50.85; IBDV+Adenovirus verilen grup (GA) ortalama 49.6; üçlü enfeksiyon oluşturulan grup (GRA) ortalama 48.35; Saha grubu (S) ortalama 40.55 olarak takip etti. Kontrol grubunun (K) kandaki heterofil lökosit sayısının ortalaması 40.7 olarak bulundu. Bu sonuçlara "Tukey-Kramer Multiple Comparisons" testi uygulandı. Buna göre sadece IBDV verilen grup (G) ile Reovirus verilen grup (R) arasındaki farkın önemsiz olduğu ($P>0.05$), bu grup ile (G) diğer deney grupları (A, GR, GA, RA, GRA, S) ve kontrol grubu (K) arasındaki farkın önemli olduğu ($P<0.001$) sonucuna varıldı. Reovirus verilen grup (R) ile Adenovirus verilen grup (A) arasındaki farkın $P<0.01$ düzeyinde, bu grup ile (R) diğer gruplar (GR, GA, RA, GRA, S ve K) farkın $P<0.001$ düzeyinde önemli olduğu görüldü. Adenovirus verilen grup

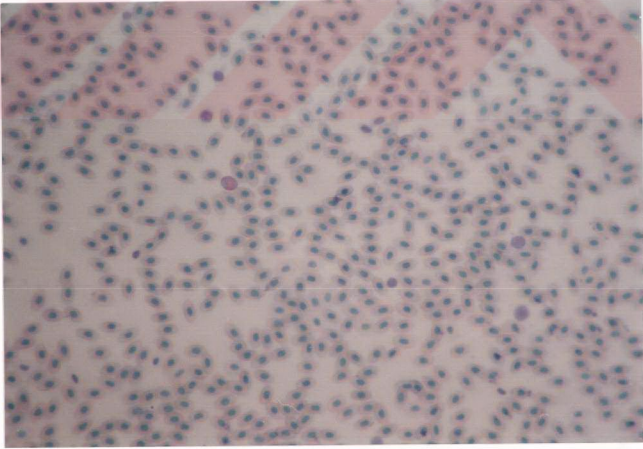
(A) ile IBDV+Reovirus (GR), IBDV+Adenovirus (GA), Reovirus+Adenovirus (RA) ve üçlü enfeksiyon oluşturulan grup arasındaki farkın önemsiz olduğu ($P>0.05$) görülürken, bu grup (A) ile saha (S) ve kontrol (K) grupları arasındaki fark önemli bulundu ($P<0.001$). IBDV+Reovirus verilen grup (GR) ile IBDV+Adenovirus (GA), Reovirus+Adenovirus (RA) ve üçlü enfeksiyon oluşturulan grup (GRA) arasında benzerlik bulunurken ($P>0.05$), bu grup (GR) ile saha (S) ve kontrol (K) grupları arasındaki fark ($P<0.001$) önemli bulunmuştur. IBDV+Adenovirus verilen grup (GA) ile Reovirus+Adenovirus verilen grup (RA) ve üçlü enfeksiyon oluşturulan grup (GRA) arasında benzerlik olduğu ($P>0.05$), bu grup ile (GA) saha grubu (S) arasında $P<0.001$ düzeyinde, kontrol grubu (K) ile $P<0.01$ düzeyinde fark bulunduğu görülmüştür. Reovirus+Adenovirus verilen grup (RA) ile üçlü enfeksiyon oluşturulan grup arasında benzerlik bulunurken ($P>0.05$), bu grup ile (RA) saha (S) ve kontrol (K) grupları arasında önemli düzeyde fark gözlenmiştir ($P<0.001$). Üçlü enfeksiyon oluşturulan grup (GRA) ile saha grubu (S) arasında $P<0.01$ düzeyinde, kontrol grubu (K) arasında $P<0.05$ düzeyinde fark görülmüştür. Saha grubu (S) ile kontrol grubu (K) arasındaki farkın önemsiz olduğu gözlenmiştir ($P>0.05$). Gruplar arasında kandaki heterofil lökosit sayısının ortalamaları grafik halinde sunulmuştur (Şekil-2). Kan tablosundaki bu farklar üzerinde virusların kendi etkileri ile beraber civcivlerde şekillenen pnömoni ve enterit tablolarının da etkili olduğu düşünülmektedir.



Şekil-2: Kandaki Heterofil Sayılarının gruplara göre dağılımı.



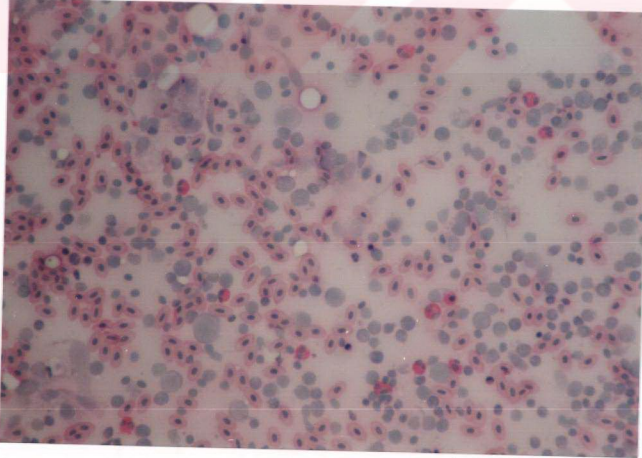
Resim-24: Deney gruplarında kan frotilerindeki heterofiller (R53)
Wright-Giemsa boyaması x400.



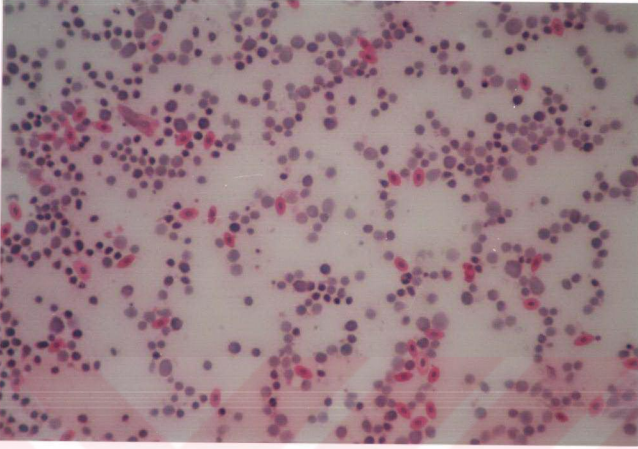
Resim-25: Kontrol grubundaki kan frotilerinin görünümü (K180)
Wright-Giemsa boyaması x400.

5-BURSA FABRICIUS SÜRME PREPARAT BULGULARI:

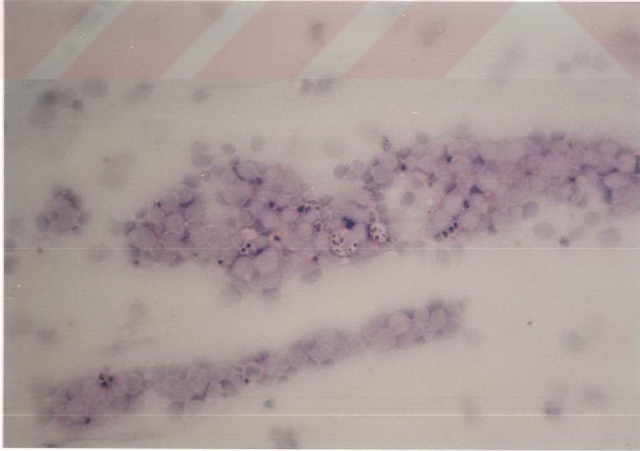
Bursa Fabricius'lardan yapılan sürme preparatlarda kontrol grubu (K) ile deney grupları (G, R, A, GR, GA, RA, GRA ve S) genel olarak karşılaştırıldığında, deney gruplarındaki civcivlerin bursa Fabricius sürme preparatlarında heterofil lökosit ve plazma hücresi sayısında artış gözlemlendi (Resim 26-27). Bursa Fabricius sürme preparatlarında heterofil lökosit sayımı 40'lık objektif altında yapıldı. Bütün preparatlarda bir mikroskop sahasında en fazla heterofil lökositin bulunduğu 5 alan tespit edildi. Bu sahalardaki toplam heterofil sayısının beşe bölümünden elde edilen ortalama sayı o preparattaki heterofil lökosit sayısı olarak kaydedildi. Buna göre tekli enfeksiyon oluşturulan gruplarda (G, R, A) bu sayı ortalama 4-7 arasında, ikili enfeksiyon oluşturulan gruplarda (GR, GA, RA) 5-10 arasında, üçlü enfeksiyon oluşturulan grup (GRA) ile saha grubunda (S) ise ortalama olarak 10'dan fazla lökosit bulunduğu gözlemlendi. Kontrol grubu (K) için bu sayı 0-3 arasında değişiyordu. Deney gruplarından (G, R, A, GR, GA, RA, GRA ve S) yapılan sürme preparatlarda ayrıca nekrotik hücreleri fagosite etmiş makrofaj sayısında da artış görüldü (Resim 28).



Resim-26: Deney gruplarındaki civcivlerin bursa Fabricius'larından yapılan sürme preparatlarındaki heterofil lökositler (GRA136) M. H. E. x400.



Resim-27: Kontrol grubundaki bursa Fabricius sürme preparatlarındaki görünüm
(K180) M. H. E. x400.



Resim-28: Deney gruplarında sürme preparatlarda nekrotik hücreleri fagosite etmiş
makrofajlar (RA114) M. H. E. x400.

6-REİZOLASYON BULGULARI:

Deneyisel çalışma sırasında inokülasyondan sonra 3. ve 6. günde deney grupları (G, R, A, GR, GA, RA, GRA, S) ve kontrol grubundan (K) alınan bursa Fabricius örnekleri homojenize edildi. Her grup için 10'ar tane olmak üzere toplam 90 SPF civciv embriyosuna inokülasyon yapıldı. Embriyoların inokülasyondan sonra 7 gün boyunca canlılık kontrolleri yapıldı. Bu süre içinde ölen embriyolar Tablo-5'te gösterilmiştir.

Tablo-5: Bursa Fabricius homojenatları ile inoküle edilen SPF civciv embriyolarında 7 gün boyunca şekillenen ölümler.

İnokülasyondan sonra geçen süre (Saat)

Gruplar	24	48	72	96	120	144	168
G							
R		+		++++	++		+
A		+	+			+	+
GR		++++					
GA	+++++	++					
RA			+++	++	+	+	+
GRA	+++++	++		+			
S			+				+
K							

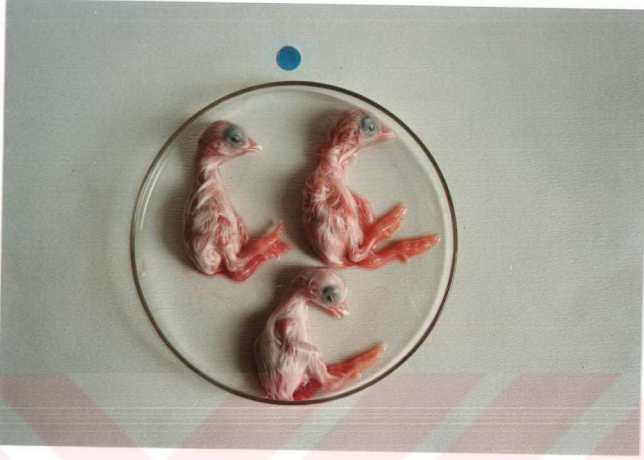
+: Ölen her bir SPF civciv embriyosunu temsil etmektedir.

Sekizinci günde ölü ve canlı bütün embriyolar yumurtalardan çıkarılarak incelendi. Deney gruplarındaki civcivlerin bursa Fabricius homojenatları ile inoküle edilen embriyolarda virus üremesi ile oluşan parmaklarda kıvrılma, karaciğerde nekroz, anomaliler, kanama, ödem, anemi ve ölüm gibi patolojik bulgular gözlemlendi (**Resim 29**). Kontrol grubundaki civcivlerin bursa Fabricius homojenatı ile inoküle edilen bütün

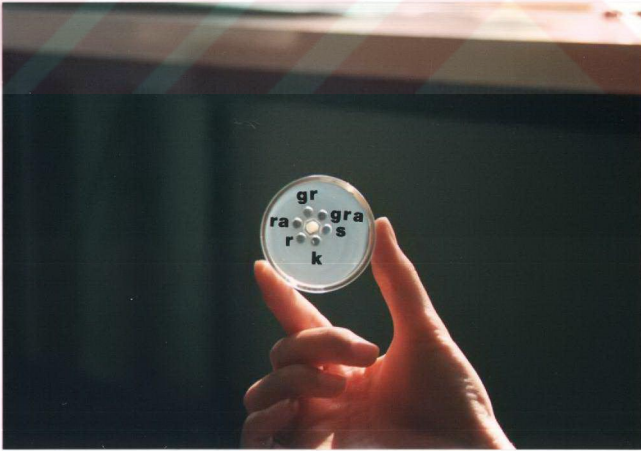
embriyolar canlı ve normal görünümdeydiler (**Resim 30**). Bütün embriyoların amnio-allantoik sıvıları spesifik antiserumlar ile AGP testine tabi tutuldular. Deney gruplarındaki civcivlerin bursa Fabricius homojenatları ile inoküle edilen embriyoları amnio-allantoik sıvıları spesifik antiserumlar ile presipitasyon çizgileri oluşturdu (**Resim 31**). Kontrol grubundaki civcivlerin bursa Fabricius homojenatları ile inoküle edilen embriyoların amnio-allantoik sıvıları Gumboro Hastalığı, Reovirus ve Adenovirus spesifik antiserumlar ile presipitasyon çizgileri oluşturmazlar.



Resim-29: Reovirus grubundaki civcivlerin bursa Fabricius homojenatı verilen SPF civciv embriyolarının görünümü.



Resim-30: Kontrol grubundaki civcivlerin bursa Fabricius homojenatları verilen SPF civciv embriyolarının görünümü.



Resim-31: AGP testindeki presipitasyon çizgileri. Orta çukurcukta Reovirus antiserumu bulunmaktadır.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Gumboro Hastalığı büyük tavuk üretim bölgelerinde önemli bir problem olan dünya çapında yaygın bir hastalıktır (23). Ülkemizde ilk kez 1978 yılında ortaya çıkarıldığı bildirilmiştir (32). Enfeksiyonun yaygın olması sebebiyle civcivler etken ile hayatlarının erken dönemlerinde karşı karşıya gelirler (23). Gumboro Hastalığı iki haftalıktan küçük civcivlerde klinik semptom göstermeden subklinik formda seyrederek ve bu haliyle immunosupresyona sebep olur (4-8). Hastalığın büyük oranda subklinik formda seyretmesinin sebeplerinden biri civcivlerde maternal antikörlerin bulunması, bir diğeri de virusun virulansı düşük olan varyant suşlarının varolmasıdır (23). Çalışmamızın deneysel bölümünde inokülasyonlar bir günlük civcivlere yapılmış ve hastalık ile ilgili klinik semptomlara rastlanmamıştır.

Ivanyi ve arkadaşları (8) yaptıkları deneysel bir çalışmada bir günlük iken IBDV ile enfekte edilen civcivlerde, üç haftalık iken enfekte edilen civcivlere göre ölüm oranının çok düşük olduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda Gumboro Hastalığı Virusu verilen grupta (G) deney süresince ölüm gözlenmemiştir.

Çalışmamızda bursa Fabricius'ların mikroskopik yoklamasında hiperemi, ödem ve folliküllerdeki lenfositlerde nekroz gözlenirken, klinik Gumboro Hastalığı için tipik bulgulardan sayılan kanama ve kistik oluşumlar görülmemiştir. Klinik Gumboro Hastalığında böbrek, dalak ve timusun da genellikle etkilendiği (23-25,29-31), fakat iki haftalıktan küçük civcivlerde bu lezyonların şekillenmediği bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda da Gumboro Hastalığı virusunun tek olarak verildiği grupta (G) yukarıda belirtilen organlarda lezyonlar gözlenmemiştir.

Çalışmamızda sadece Gumboro Hastalığı Virusunu verilen grupta (G) kanda heterofil lökosit sayısının arttığı, buna karşılık lenfosit sayısının azaldığı görülmüştür. Hudson ve arkadaşları (34) deneysel olarak bir günlük iken IBDV ile enfekte edilen civcivlerde bu hastalık sebebiyle bursa Fabricius'taki B lenfosit diferensiyasyonunun bloke edilmesi nedeniyle kanda lenfosit sayısının azaldığını bildirmişlerdir.

Bazı yazarlar Gumboro hastalığının subklinik formunda Hemorajik Aplastik Anemi Sendromu, Gangrenöz Dermatit, İnklüzyon Cisimcikli Hepatit ve Marek gibi hastalıkların oluşumunu ve şiddetini arttırdığını rapor etmişlerdir (9-11, 16). Bizim çalışmamızda da sadece Gumboro Hastalığı Virusunu verilen grupta (G) şekillenen bursa Fabricius lezyonlarının, IBDV+Adenovirus verilen grup (GA) ile IBDV+Reovirus verilen gruplarda (GR) şekillenen gruplara göre daha hafif olduğu gözlenmiştir ($P<0.001$ ve $P<0.01$). Üçlü enfeksiyon oluşturulan gruptaki (GRA) bursa Fabricius lezyonlarının sadece Gumboro Hastalığı Virusunu verilen gruptaki lezyonlardan daha şiddetli olduğu dikkati çekmiştir ($P<0.05$).

Kanatlı Reovirus'larının oluşturduğu en önemli hastalıklar tenosinovitis ve runting sendromudur (41,42,45,51,59,60,63). Çalışmamızda kullanılan S1133 suşu tenosinovitis oluşumundan sorumlu suş olarak bilinmektedir fakat Clark ve arkadaşları (54) yaptıkları deneysel bir çalışmada bu suşun ağız yoluyla verildiğinde tenosinovitis oluşturmadığını görmüşlerdir. Saha şartlarında enfeksiyonların en önemli bulaşma yolunun ağız yoluyla olması sebebiyle, bizim çalışmamızda bütün gruplarda inokülasyonlar ağız yoluyla uygulandı. Bu nedenle, Reovirus verilen gruplarda tenosinovitis oluşumu görülmemesinin sebebi virusun peros uygulanması şekline bağlandı.

Bir çok araştırmacının rapor ettiği gibi Reovirusların sebep olduğu gelişme geriliğine bizim çalışmamızda Reovirusun tekli (R), ikili (GR, RA) ve üçlü (GRA) kombinasyonlarının verildiği gruplar ile saha grubunda da (S) rastlanmıştır (36,51,52,58,60). Bununla beraber diğer gruplarda da (G, A, GA) kontrol grubu (K) ile karşılaştırıldığında, ikili enfeksiyon oluşturulan grupta (GA) daha belirgin olmak

üzere gelişme geriliği görüldü. Bu durum inokülasyondan sonraki yaklaşık bir haftalık dönemde gözlenen ishal tablosu ve bu süre içinde civcivlerin yem tüketiminin azalmasına bağlandı.

Reovirusların sebep olduğu bazı salgınlarda çok sık olmamakla beraber pankreasın etkilendiği ve atrofiye kadar değişen lezyonların bulunduğu bildirilmiştir (52,56). Bizim çalışmamızda Reovirus inoküle edilen grupta (R) bir civcivde pankreasta vakuoler tipte dejenerasyon gözlendi.

Çalışmamız sırasında yapılan kan frotilerinin incelenmesinde bütün gruplar arasında en fazla heterofil lökositte Reovirusun tek olarak verildiği grupta (R) rastlandı. Bunun nedeninin bu grupta (R) bursa Fabricius'ta şekillenen lezyonların, sadece Gumboro Hastalığı Virusunu verilen gruptaki lezyonlara benzerlik göstermesi ($P>0.05$) sebebiyle Gumboro Hastalığında olduğu gibi lenfositlerin azalması sebebiyle heterofil lökosit sayısının nisbi olarak arttığı düşünülmektedir. Bunun dışında, görülen enterit ve pnömoni tablolarının da kan sayımı üzerine etkili faktörler olduğu kanısına varılmıştır.

Adenovirus olarak kullandığımız Celo-phelps suşu literatürde inklüzyon cisimcikli hepatitisten sorumlu suş olarak bildirilmektedir (102,103). Bununla beraber bu hastalıkta inklüzyon cisimciği görülme oranının %20 dolaylarında olduğu bildirilmiştir (93). Ayrıca bazı deneysel çalışmalarda Adenovirus ile tekli enfeksiyon oluşturulan gruplarda herhangi bir lezyon oluşmadığı da görülmüştür (11). Bizim çalışmamızda da Adenovirus ile tekli enfeksiyon oluşturulan grupta (A) karaciğerde bu hastalıkla ilgili lezyonlar görülmemiştir. Inklüzyon cisimciklerinin görülmemesinin en önemli sebepleri incelenen dokuların henüz inklüzyon cisimciği oluşmadığı dönemlerde alınmış olması veya inklüzyon cisimciklerinin sayısının çok az olması ve bunların kesitlere denk gelmemesi şeklinde açıklanmıştır (105). Bizim çalışmamızda ikili ve üçlü enfeksiyonlarda şekillenen lezyonları daha iyi gözlemleyebilmek için gruplara verilen virus miktarları düşük tutulmuştur. Inklüzyon cisimciği oluşmama sebeplerinden birinde bu olduğu düşünülmektedir. Literatürde Adenovirus enfeksiyonlarında bursa Fabricius ve timusta genellikle atrofi gözlendiği rapor

edilmiştir (84,91,92,94). Çalışmamızda Adenovirus ile tekli enfeksiyon oluşturulan grupta (A) bursa Fabricius'larda atrofi gözlenirken sadece bir civcivde timusta atrofi görüldü.

Gumboro Hastalığı Virusu, Adenovirus ve Reovirusun civcivlerde ishal oluşturduğu bildirilmektedir (23,37,69). Bizim çalışmamızda da bu üç virusla tekli (G, R, A), ikili (GR, GA, RA) ve üçlü (GRA) enfeksiyon oluşturulan gruplar ile bu virusların saha suşlarını içeren izolatin verildiği gruptaki (S) civcivlerde, şiddetli ve süresi gruplara göre değişmekle birlikte inokülasyondan sonraki bir haftalık dönem içinde ishal tabloları gözlendi.

Moradian ve arkadaşları (95) IBDV ve Reovirus ile yaptıkları bir çalışmada ikili enfeksiyon oluşturulan grupta bursa Fabricius'ların atrofik olduğunu bildirmiş, bizim çalışmamızda ise bu organlarda makroskobik olarak kontrol grubuna göre küçülme gözlenmemiştir. Çalışmamızda IBDV+Reovirus verilen gruptaki civcivlerin mikroskobik olarak bursa Fabricius'larında şekillenen lezyonların IBDV ile tekli olarak enfekte edilen gruptaki (G) şekillenen lezyonlardan daha şiddetli olduğu görülmüştür ($P<0.01$). Moradian ve arkadaşları (95) yaptıkları çalışmada timus ve karaciğerin etkilendiğini bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde bazı civcivlerde timus ve karaciğerde hafif şiddette yangı hücresi infiltrasyonları gözlenmiştir.

Fadly ve arkadaşlarının deneysel olarak yaptıkları bir çalışmada inklüzyon cisimcikli hepatitis virusundan önce veya onunla aynı anda Gumboro Hastalığı virusu verildiğinde civcivlerde inklüzyon cisimcikli hepatitis oluşma oranının arttığını bir başka deyişle Gumboro hastalığının civcivleri inklüzyon cisimcikli hepatitise karşı duyarlı hale getirdiğini bildirmişlerdir (11). Bizim çalışmamızda da Gumboro Hastalığı Virusu ve Adenovirus ile kombine enfeksiyon oluşturulan grupta (GA) bursa Fabricius'taki lezyonların Gumboro Hastalığı virusu veya Adenovirus ile tekli enfeksiyon oluşturulan gruplarda (G ve A) şekillenen lezyonlardan çok daha şiddetli olduğu gözlemlendi ($P<0.001$). Bazı civcivlerde bursa Fabricius'taki folliküllerde nekroz ve atrofi dikkati çekti ve bu bulgular literatür bilgileriyle uygunluk gösterdi

(11,55). İkili enfeksiyon oluşturulan gruptaki (GA) civcivlerde karaciğerde şiddetli kanama ve nekrozlar görüldü. Fakat inklüzyon cisimciklerine rastlanmadı. Gallina ve arkadaşları (104) inklüzyon cisimcikli hepatitis olgularında bazen pankreasın da etkilendiğini bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ikili enfeksiyon oluşturulan (GA) civcivlerden birinde pankreasta şiddetli fibrosis tablosu gözlemlendi.

Reovirus ve Adenovirus'un birlikte verildiği grupta (RA) şekillenen lezyonlar bu virusların tek olarak verildiği gruplarda (R ve A) şekillenen lezyonlardan daha şiddetliydi. Bu durum sadece Adenovirus verilen grup (A) ile Reovirus+Adenovirus verilen grup (RA) arasında istatistik açıdan önemli bulunurken ($P<0.001$), Reovirusun tek olarak verildiği grup (R) ile ikili enfeksiyon oluşturulan grup (RA) arasında önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$). Jones ve arkadaşları (55) yaptıkları bir çalışmada Reovirus ve Adenovirus'u ağız ve/veya ayak tabanı yoluyla vererek tendolarda şekillenen lezyonları incelemişler, fakat diğer organlarda ki lezyonlara değinmemişlerdir. Her iki virusunda ağız yoluyla inokülasyonu yapılan gruplarda tendo lezyonlarının ya hiç şekillenmediği ya da çok hafif şekillendiği, ayak tabanı yoluyla inokülasyon yapılan civcivlerde şiddetli tenosinovitis bulguları gözlediklerini bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda da viruslar oral yolla verilmiş ve tenosinovitis gözlenmemiştir. Bu gruptaki (RA) civcivlerin bursa Fabricius'larının kontrol grubundaki civcivlerin bursa Fabricius'larına göre küçük olduğu dikkati çekmiştir. Bu küçülme Reovirus+Adenovirus verilen grupta (RA) daha belirgin olmuştur. Bazı civcivlerde karaciğerde ödem ve nekrotik değişiklikler gözlenmiştir. Bu durum Reovirus'larla ikili enfeksiyonun Adenovirus'ların etkisini arttırdığı düşüncesini desteklemiştir (55).

Literatürde her üç virusu da vererek oluşturulan enfeksiyon çalışmalarına rastlanmamıştır. Klinik olarak bu grupta (GRA), tekli enfeksiyon oluşturulan gruplara kıyasla daha şiddetli, ikili enfeksiyon oluşturulan gruplarda ve saha grubunda şekillenenlere ise benzer semptomlar gözlemlendi. Nekropsilerde bursa Fabricius'ların saha grubu (S) dışındaki bütün gruplara göre daha büyük olduğu dikkati çekti. Bursa Fabricius'lar saha grubu ile yaklaşık aynı büyüklükteydi. Üç virusunda birlikte

verildiği bu grupta bursa Fabricius lezyonları tekli enfeksiyon oluşturulan gruplarla karşılaştırıldığında bu grup ile (GRA), sadece Gumboro Hastalığı Virusunu verilen grupta (G) ve sadece Adenovirus verilen grupta (A) şekillenen lezyonlar arasında önemli fark bulunduğu ($P<0.01$ ve $P<0.001$), fakat bu grup ile (GRA), sadece Reovirus verilen grupta (R) şekillenen bursa Fabricius lezyonları arasındaki farkın istatistik açıdan önemli olmadığı görülmüştür ($P>0.05$). Üçlü enfeksiyon oluşturulan bu grupta şekillenen bursa Fabricius lezyonlarının gerek ikili enfeksiyon oluşturulan gruplarda (GR, GA, RA) şekillenen bursa Fabricius lezyonları ve gerekse saha izolatu verilen grupta (S) şekillenen bursa Fabricius lezyonları ile benzer oldukları görülmüştür ($P>0.05$). İnokülasyon yapılan diğer gruplarda olduğu gibi üçlü enfeksiyon oluşturulan gruptaki (GRA) civcivlerde de pnömoni ve enteritis tabloları gözlemlendi. Bu gruptaki bazı civcivlerde karaciğerde nekrozlar ve timusta heterofil infiltrasyonları dikkati çekti.

Çalışmamızın önemli bir bölümünü Manisa Tavuk Hastalıkları Araştırma ve Aşı Üretim Enstitüsü tarafından yapılan çalışmalarla Ege Bölgesi'ndeki şiddetli Gumboro Hastalığı salgınlarından izole edilen ve üç virusunda saha suşunu içeren izolatu verilmesiyle enfeksiyon oluşturulan grupta (S) şekillenen lezyonlar standart suşlarla enfeksiyon oluşturulan gruplarla karşılaştırılması oluşturmuştur. Saha izolatu verilen grupta (S) şekillenen bursa Fabricius lezyonları ile sadece IBDV verilen gruptaki (G) bursa Fabricius lezyonları arasında $P<0.01$ düzeyinde, bu grup (S) ile sadece Adenovirus verilen grupta şekillenen lezyonlar arasında $P<0.001$ düzeyinde önemli fark bulunduğu, bu grup (S) ile sadece Reovirus verilen grupta bursa Fabricius'larda şekillenen lezyonların benzer olduğu ($P>0.05$) görülmüştür. Saha izolatu verilen grupta (S) şekillenen bursa Fabricius lezyonları ile ikili (GR, GA, RA) enfeksiyon oluşturulan gruplarda şekillenen bursa Fabricius lezyonları arasındaki farkın önemli olmadığı görülmüştür ($P>0.05$). Bu grup (S) ile üçlü enfeksiyon oluşturulan grup (GRA) arasında bursa Fabricius lezyonları açısından benzerlik dikkati çekmiştir ($P>0.05$). IBDV, Reovirus ve Adenovirusun standart suşları ile üçlü enfeksiyon oluşturulan grup (GRA) ile bu virusların saha suşlarını içeren izolatu verildiği gruptaki (S) bursa Fabricius lezyonları her ne kadar benzer görünüyorsa da,

standart suşlarla üçlü enfeksiyon oluşturulan gruba (GRA) yüksek titrelili viruslardan 1ml., saha grubuna ise düşük titrelili viruslardan sadece 0.3 ml. verildiği düşünülecek olursa, ülkemizde salgınlara neden olan Gumboro Hastalığı virusu suşlarının oldukça virulent suşlar olduğu düşünülebilir.

Nekropsi öncesi alınan kanlardan yapılan frotilerin total lökosit formülü yönünden incelenmesinde tekli enfeksiyon oluşturulan gruplarda ikili ve üçlü enfeksiyon oluşturulan gruplara göre kanda daha fazla heterofil lökosit olduğu dikkati çekti. Tekli enfeksiyonlarda heterofil sayısının yüksek olmasının bursa Fabricius'lardaki lezyonlar nedeniyle lenfosit sayısının azalmasından dolayı olduğu düşünüldü. İkili ve üçlü enfeksiyonlarda ise yangı olaylarının şiddetli olması ve heterofil lökositlerin bu bölgelere infiltre olmaları sebebiyle kandaki oranlarının düştüğü şeklinde bir düşünceye varıldı. Bütün gruplarda şekillenen pnömoni ve enterit tablolarında kan tablosu üzerinde önemli etkileri olduğu düşünülmektedir. Kontrol grubunda ise kanda heterofil lökosit sayısının düşük, lenfosit sayısının yüksek olması klasik bilgilerle uygunluk göstermiştir (106).

Bursa Fabricius sürme preparatlarının HE ile boyanıp incelenmesiyle ilgili literatüre rastlanmamış, bu yöntem ilk kez bizim çalışmamızda kullanılmıştır. Bu yöntem ile Gumboro Hastalığı, Reovirus ve Adenovirus enfeksiyonlarının tek olarak oluşturulduğu gruplarda heterofil lökosit, plazma hücresi ve makrofaj sayısının ikili ve üçlü enfeksiyonlara göre az olması, bursa Fabricius'larda şekillenen dejenerasyon ve nekroz oranları ile sürme frotilerdeki yangı hücresi sayısı arasında bir orantı olduğunu göstermiştir. Bu yöntem ile kesin hastalık teşhisi yapılamasa bile sürü bazında bir problem olup olmadığı konusunda yol gösterilebilecek ve kısa sürede uygulanabilecek bir yöntem olabileceği düşünülmektedir.

Deney sırasında virus inoküle edilerek enfeksiyon oluşturulan gruplardan alınan bursa Fabricius'lardan alınan etken reizolasyonu yapılmıştır. Kontrol grubuna ait civcivlerin bursa Fabricius'larında ise virus bulunmamıştır. Bu sonuç elde edilen makroskobik ve mikroskobik bulguların tesadüfi olmadığını ve virusların etkisi ile şekillendiğini göstermiştir.

Çalışmadan elde edilen bulgular genel olarak değerlendirilecek olursa, ülkemizde ticari işletmelerde kullanılan civcivlerin standart virus suşlarına belli bir ölçüde dirençli oldukları görülebilir. Çünkü saha izolatına göre oldukça yüksek miktarlarda standart virus suşlarının verildiği civcivler ile saha izolatu verilen grupta benzer lezyonlar görülmüştür. Bu bulgu ayrıca ülkemizde bu virusların oldukça virulent suşlarının bulunduğu fikrini destekler niteliktedir (1).

Sonuç olarak bu çalışmada elde edilen bulguların saha koşullarında Gumboro Hastalığı, Adenovirus ve Reoviruslar enfeksiyonlarının tekli, ikili veya üçlü kombinasyonlarının sözkonusu olup olmadığı hakkında bir fikir vereceğini düşünmekteyiz. Bu bulgular ışığında etken izolasyonu ile birlikte kesin teşhis koymak mümkündür.



KAYNAKLAR

- 1-KİŞİSEL GÖRÜŞME: Dr. Olcay TÜRE, Dr. Fethiye ÇÖVEN, Manisa Tavuk Hastalıkları Araştırma ve Aşı Üretim Enstitüsü, Nisan 1993.
- 2-ÇÖVEN, F.: Ege bölgesinde Enfeksiyöz Bursal Hastalığı (Gumboro) olaylarının araştırılması ve izolasyon çalışmaları, Bornova Hayvan Aşıları Kontr. Merk. Mdr. Derg., 18: 32, 105-120, 1994.
- 3-COSGROVE, A. S.: An apparently new disease of chickens- Avian Nephrosis, Avian Dis., 6: 385-389, 1962.
- 4-ALLAN, W. H., FARAGHER, J. T., CULLEN, G. A.: Immunosuppression by the Infectious Bursal Agent in chickens immunised against Newcastle Disease, Vet. Rec., 90: 511-512, 1972.
- 5-FARAGHER, J. T., ALLAN, W. H., WYETH, P. J.: Immunosuppressive effect of Infectious Bursal Agent on vaccination against Newcastle Disease, Vet. Rec., 95: 385-388, 1974.
- 6-HIRAI, K., SHIMAKURA, S., KAWAMOTO, E., TAGUCHI, F., KIM, S. T., CHANG, C. N.: The immunodepressive effect on Infectious Bursal Disease Virus in chickens, Avian Dis., 18: 50-57, 1974.
- 7-IVANYI, J.: Immunodeficiency in the chicken. II Production of monomeric IgM following testosterone treatment or infection with Gumboro Disease, J. Immunol., 28: 1015-1021, 1975.
- 8-IVANYI, J., MORRIS, R.: Immunodeficiency in the chicken. IV. An immunological study of Infectious Bursal Disease, Clin. Exp. Immunol., 23: 154-165, 1976.

- 9-ROSENBERGER, J. K., KLOPP, S., ECKROADE, R. J., KRAUSS, W. C.: The role of the Infectious Bursal Agent and Several Avian Adenoviruses in the Hemorrhagic-Aplastic-Anemia Syndrome and Gangrenous Dermatitis, *Avian Dis.*, 19: 717-729, 1975.
- 10-KÄUFER, V. I., WEISS, E.: Aplastische Anämie, Lebernekrosen und Blutungen bei Junghühnern nach neonataler Infektion mit dem Virus der Infektiösen Bursitis, *Dtsch Tierärztl. Wschr.*, 84: 93-98, 1977.
- 11-FADLY, A. M., WINTERFIELD, R. W., OLANDER, H. J.: Role of the Bursa of Fabricius in the pathogenicity of Inclusion Body Hepatitis and Infectious Bursal Disease Viruses, *Avian Dis.*, 20: 467-477, 1976.
- 12-GIAMBRONE, J. J., EIDSON, C. S., PAGE, R. K., FLETCHER, O. J., BARGER, B. O., KLEVEN, S. H.: Effect of Infectious Bursal Agent on the response of chickens to Newcastle Disease and Marek's Disease Vaccination, *Avian Dis.*, 20: 534-544, 1976.
- 13-KÖKÜUSLU, C., ÖZKUL, A. İ., ERGÜN, A.: Piliçlerin spontan ve deneysel İnfeksiyöz Bursitis (Gumboro Hastalığı) olgularında Newcastle aşısının immunojenik etkisi, *Doğa Bilim. Derg.*, 7: 271-282, 1983.
- 14-GIAMBRONE, J. J., ANDERSON, W. I., REID, W. M., EIDSON, C. S.: Effect of Infectious Bursal Disease on the severity of *Eimeria tenella* infections in broiler chicks, *Poult. Sci.*, 56: 243-246, 1977c.
- 15-ANDERSON, W. I., REID, W. M., LUKERT, P. D., FLETCHER, O. J.: Influence of Infectious Bursal Disease on the development of immunity to *Eimeria tenella*, *Avian Dis.* 21: 637-641, 1977.
- 16-CHO, B. R.: Experimental dual infections of chickens with Infectious Bursal and Marek's disease agents. I. Preliminary observation on the effect of Infectious Bursal Agent on Marek's Disease, *Avian Dis.*, 14: 665-675, 1970.
- 17-GIAMBRONE, J. J., EWERT, D. L., EIDSON, C. S.: Effect of Infectious Bursal Disease Virus on the immunological responsiveness of the chicken, *Poult. Sci.*, 56: 1591-1594, 1977b.

- 18-HIRAI, K., KUNIHURO, K., SHIMAKURA, S.: Characterization of immunosuppression in chickens by Infectious Bursal Disease Virus, *Avian Dis.*, 24: 950-965, 1979.
- 19-DOBOS, P., HILL, B. J., HALLETT, R., KELLS, D. T. C., BECHT, H., TENINGES, D.: Biophysical and biochemical characterization of five animal viruses with bisegmented double-stranded RNA genomes, *J. Virol.*, 32: 593-605, 1979.
- 20-MULLER, H., SCHOLTISSEK, C., BECHT, H.: The genome of Infectious Bursal Disease Virus consists of two segments of double-stranded RNA, *J. Virol.*, 31: 584-589, 1979.
- 21-McFERRAN, J. B., McNULTY, M. S., McKILLOP, E. R., CONNOR, T. J., McCracken, R. M., COLLINS, D. S., ALLAN, G. M.: Isolation and serological studies with Infectious Bursal Disease Viruses from fowl, turkeys and ducks: Demonstration of a second serotype, *Avian Pathol.*, 9: 395-404, 1980.
- 22-JACKWOOD, D. J., SAIF, Y. M., MOORHEAD, P. D.: Immunogenicity and antigenicity of Infectious Bursal Disease Virus serotypes I and II in chickens, *Avian Dis.*, 29: 1184-1194, 1985.
- 23-LUKERT, P. D., SAIF, Y. M.: Infectious Bursal Disease, *Diseases of Poultry*, Ed. CALNEK, B. W., Iowa State University Press., Iowa, 1991, 648-663.
- 24-HELMBOLDT, C. F., GARNER, E.: Experimentally induced Gumboro Disease (IBA), *Avian Dis.*, 8: 561-575, 1964.
- 25-CHEVILLE, N. F.: Studies on the pathogenesis of Gumboro Disease in the Bursa of Fabricius, spleen, and thymus of the chicken, *Am. J. Pathol.*, 51: 527-551, 1967.
- 26-ALLAN, G. M., McNULTY, M. S., CONNOR, T. J., McCracken, R. M., McFERRAN, J. B.: Rapid diagnosis of Infectious Bursal Disease infection by immunofluorescence on clinical material, *Avian Pathol.*, 13: 419-427, 1984.
- 27-MULLER, R., KÄUFER, I., REINACHER, M., WEISS, E.: Immunofluorescent studies of early virus propagation after oral infection with Infectious Bursal Disease Virus (IBDV), *Zbl. Vet. Med. B.*, 26: 345-352, 1979.

- 28-HAZIROĞLU, R., MAEDA, M., NAKAMURA, K., HARITANI, M., NARITA, M.: Diagnosis of Infectious Bursal Disease (IBD) by immunofluorescence, A. Ü. Vet. Fak. Derg., 35: 289-298, 1988.
- 29-INONUE, M., FUKUDA, M., MIYANO, K.: Thymic lesions in chicken infected with Infectious Bursal Disease Virus, Avian Dis., 38: 839-846, 1994.
- 30-OKOYE, J. O. A., UZOUKWU, M.: Pathogenesis of Infectious Bursal Disease in embryonally bursectomised chickens, Avian Pathol., 19: 555-569, 1990.
- 31-LEY, D. H., YAMAMOTO, R., BICKFORD, A. A.: The pathogenesis of Infectious Bursal Disease: Serologic, histopathologic and clinical chemical observations, Avian Dis., 27: 1060-1085, 1983.
- 32-ÖZKUL, A. İ.: Piliçlerin deneysel Gumboro Hastalığında (İnfeksiyöz Bursal Hastalık) oluşan bulguların histopatolojik ve elektron mikroskopik olarak incelenmesi, Doçentlik Tezi, Ankara, 1980.
- 33- NUNOYA, T., OTAKI, Y., TAJIMA, M., HIRAGA, M., SAITO, T.: Occurrence of acute Infectious Bursal Disease with high mortality in Japan and pathogenicity of field isolates in specific pathogen free chickens, Avian Dis., 36: 597-609, 1992.
- 34-HUDSON, L., PATTISON, M., THANTREY, N.: Specific B lymphocyte suppression by Infectious Bursal Agent (Gumboro Disease Virus) in chickens, Eur. J. Immunol., 5: 675-679, 1975.
- 35-SHARMA, J. M., LEE, L. F.: Effect of Infectious Bursal Disease on natural killer cell activity and mitogenic response of chicken lymphoid cells: Role of adherent cells in cellular immune suppression, Infect. Immun., 42: 747-754, 1983.
- 36-ROBERTSON, M. D., WILCOX, G. E.: Avian reovirus, Vet. Bull., 56: 155-174, 1986.
- 37-ROSENBERGER, J. K., OLSON, N. O.: Reovirus infections, Diseases of Poultry, Ed. CALNEK, B. W., Iowa State University Press, Iowa, 1991, 639-647.
- 38-VAN DER HEIDE, L., GEISSLER, J., BRYANT, E. S.: Infectious tenosynovitis: Serologic and histopathologic response after experimental infection with a Connecticut isolate, Avian Dis., 18: 289-296, 1974.

- 39-JONES, R. C., GEORGIU, K., GUNERATNE, J. R. M.: Rupture of digital flexor tendons of chickens after infection with reovirus, *Vet. Rec.*, 23: 180, 1980.
- 40-JONES, R. C., GEORGIU, K.: The temporal distribution of an arthrotropic reovirus in the leg of the chicken after oral infection, *Avian Pathol.*, 14: 75-85, 1984.
- 41-JONES, R. C., KIBENGE, F. S. B.: Reovirus-induced tenosynovitis in chickens: The effect of breed, *Avian Pathol.*, 13: 511-528, 1984.
- 42-TAKASE, K., NISHIKAWA, H., KATSUKI, N., YAMADA, S.: Pathogenicity of avian reoviruses isolated from tendons and tendon sheaths of chickens with leg weakness, *Jpn. J. Vet. Sci.*, 46: 467-473, 1984.
- 43-ISLAM, M. R., JONES, R. C., KELLY, D. F.: Pathogenesis of experimental reovirus tenosynovitis in chickens: Influence of the route of infection, *J. Comp. Pathol.*, 98: 325-336, 1988.
- 44-ROSENBERGER, J. K., STERNER, F. J., BOTTS, S., LEE, K. P., MARGOLIN, A.: In vitro and in vivo characterization of avian reoviruses. I. Pathogenicity and antigenic relatedness of several avian reovirus isolates, *Avian Dis.*, 33: 535-544, 1989.
- 45-HILL, J. E., ROWLAND, G. N., GLISSON, J. R., VILLEGAS, P.: Comparative microscopic lesions in reoviral and staphylococcal tenosynovitis, *Avian Dis.*, 33: 401-410, 1989.
- 46-ÇARLI, K. T., ÇÖVEN, F., ŞEN, A., MİNBAŞ, A.: Kuzeybatı Türkiye'de "Gelişme Geriliği Sendromu" gösteren civcivlerden reovirusların izolasyonu, *Pendik Hayv. Hast. Merk. Araşt. Enst. Derg.*, 22: 41-62, 1991.
- 47-SHIRAI, J., OBATA, H., NAKAMURA, K., FURUTA, K., HIHARA, H., KAWAMURA, H.: Experimental infection in specific pathogen free chicks with avian reovirus and avian nephritis virus isolated from broiler chicks showing runting syndrome, *Avian Dis.*, 34: 295-303, 1990.
- 48-SZABO, J., SALYI, G., RUDAS, P.: Effect of malabsorption syndrome on pancreatic function in broilers, *Poult. Sci.*, 68: 1553-1560, 1989.
- 49-KOUWENHOVEN, B., VERTOMMEN, M., GOREN, E.: Investigations into the role of reovirus in the malabsorption syndrome, *Avian Pathol.*, 17: 879-892, 1988.

- 50-ROSENBERGER, J. K.: Characterization of reoviruses associated with a runting syndrome in chickens, *Zootechnica international*, January: 74-78, 1986.
- 51-VELTMANN, J. R., JENSEN, L. S., ROWLAND, G. N.: Exacerbative effect of vitamin A on malabsorption syndrome in chicks, *Avian Dis.*, 29: 446-456, 1985.
- 52-BRACEWELL, C. D., RANDALL, C. J.: The infectious stunting syndrome, *World's Poult. Sci. J.*, 40: 31-37, 1984.
- 53-GIAMBRONE, J. J., CLAY, R. P.: Evaluation of broiler breeder pullet vaccination programs for preventing clinical reovirus infections in the progeny, *Poult. Sci.*, 65: 457-461, 1986.
- 54-CLARK, F. D., NI, Y., COLLISON, E. W., KEMP, M. C.: Characterization of avian reovirus strain-specific polymorphism, *Avian Dis.*, 34: 304-314, 1990.
- 55-JONES, R. C., GEORGIU, K.: Experimental infection of chickens with an adenovirus isolated from tenosynovitis, following infection with either (1) an arthrotropic reovirus, or (2) Infectious Bursal Disease virus, *Avian Pathol.*, 13: 289-302, 1984b.
- 56-MARTLAND, M. F., FARMER, H.: Pancreatic duct obstruction in a stunting syndrome of broiler chickens, *Vet. Rec.*, 118: 531-534, 1986.
- 57-WYETH, P. J., CHETTLE, N. J.: Infectious stunting syndrome: Evidence of vertical transmission, *Vet. Rec.*, 117: 465-467, 1985.
- 58-RIDDEL, C., DEROW, D.: Infectious stunting and pancreatic fibrosis in broiler chickens in Saskatchewan, *Avian Dis.*, 29: 107-115, 1984.
- 59-MEULEMANS, G.: Infectious stunting of chickens, *Zootechnica International*, June: 43-47, 1983.
- 60-BRACEWELL, C. D., WYETH, P.: Infectious Stunting of chickens, *Vet. Rec.*, 109: 64, 1981.
- 61-MITTENBURG, J. T., KOUWENHOVEN, B., VERTOMMEN, M.: Infectious Stunting of chickens, *Vet. Rec.*, 109: 477, 1981.
- 62-REECE, R. L., FRAZIER, J. A.: Infectious stunting syndrome of chickens in Great Britain: Field and experimental studies, *Avian Pathol.*, 19: 723-758, 1990.

- 63-FARMER, A. M., TAYLOR, J.: Infectious stunting syndrome: The isolation of a novel virus, *Vet. Rec.*, 116: 111, 1985.
- 64-ANGEL, C. R., SELL, J. L., TRAMPEL, D. W.: Stunting syndrome in turkeys: Physical and physiological changes, *Poult. Sci.*, 69: 1931-1942, 1990.
- 65-O'BRIEN, J. D. P.: "Stunting syndrome" in broiler chickens, *Vet. Rec.*, 114: 203, 1983.
- 66-BARR, D. A., SINCLAIR, A. J., REECE, R. L., EMBURY, D. H., GOULD, J. A., HOOPER, P. T., SMART, I. J.: "Stunting syndrome" in broiler chickens, *Vet. Rec.*, 114: 380-381, 1983.
- 67-SHAPIRO, F., NIR, I.: Stunting syndrome in broilers: Physical, physiological and behavioral aspects, *Poult. Sci.*, 74:33-44, 1995.
- 68-McFERRAN, J. B.: Adenovirus infections, *Diseases of poultry*, Ed. CALNEK, B. W., Iowa State University Press, Iowa, 1991, 552-563.
- 69-KAWAMURA, H., SHIMIZU, F., TSUBAHARA, H.: Avian adenovirus: Its properties and serological classification, *Nat. Inst. Anim. Hlth. Quart.*, 4: 183-193, 1964.
- 70-WINTERFIELD, R. W., FADLY, A. M., GALLINA, A. M.: Adenovirus infection and disease. I. Some characteristics of an isolate from chickens in Indiana, *Avian Dis.*, 17: 334-343, 1973.
- 71-TANIMURA, N., NAKAMURA, K., IMAI, K., MAEDA, M., GOBO, T., NITTA, S., ISHIHARA, T., AMANO, H.: Necrotizing pancreatitis and gizzard erosion associated with adenovirus infection in chickens, *Avian Dis.*, 37: 606-611, 1993.
- 72-EASTON, G. D., SIMMONS, D. G.: Antigenic analysis of several turkey respiratory adenoviruses by reciprocal neutralization kinetics, *Avian Dis.*, 21: 605-611, 1977.
- 73-ZSAK, L., KISARY, J.: Characterisation of adenoviruses isolated from geese, *Avian Pathol.*, 13: 253-264, 1984.
- 74-RIDDEL, C.: Viral hepatitis in domestic geese in Saskatchewan, *Avian Dis.*, 28: 774-782, 1984.

- 75-JACK, S. W., REED, W. M., BRYAN, T. A.: Inclusion body hepatitis in Bobwhite quail (*Colinus virginianus*), *Avian Dis.*, 31: 662-665, 1987.
- 76-JACK, S. W., REED, W. M.: Further characterization of an avian adenovirus associated with inclusion body hepatitis in Bobwhite quails, *Avian Dis.*, 31: 526-530, 1990.
- 77-GOODWIN, M. A.: Adenovirus inclusion body ventriculitis in chickens and captive Bobwhite quail (*Colinus virginianus*), *Avian Dis.*, 37: 568-571, 1993.
- 78-GORYO, M., UEDA, Y., UMEMURA, T., HARUNA, A., ITAKURA, C.: Inclusion body hepatitis due to adenovirus in pigeons, *Avian Pathology*, 17: 391-401, 1988.
- 79-TAKASE, K., YOSHINAGA, N., EGASHIRA, T., UCHIMURA, T., YAMAMOTO, M.: Avian adenovirus isolated from pigeons affected with inclusion body hepatitis, *Jpn. J. Vet. Sci.*, 52: 207-215, 1990.
- 80-REECE, R. L., PASS, D. A., BUTLER,,: Inclusion body hepatitis in a tawny frogmouth (*Podargus strigoides*: Caprimulgiformes), *Aust. Vet. J.*, 62: 426, 1985b.
- 81-SCOTT, P. C., CONDRON, P. J., REECE, R. L.: Inclusion body hepatitis associated with adenovirus-like particles in a cockatiel (*Psittaciformes*; *Nymphicus hollandicus*), *Aust. Vet. J.*, 63: 337, 1986.
- 82-PASS, D. A.: Inclusion bodies and hepatopathies in psittacines, *Avian Pathol.*, 16: 581-597, 1987.
- 83-MACPHERSON, I., McDOUGALL, J. S., LAURSEN-JONES, A. P.: Inclusion body hepatitis in a broiler integration, *Vet. Rec.*, 95: 286-289, 1974.
- 84-GRIMES, T. M., KING, D. J., KLEVEN, S. H., FLETCHER, O. J.: Involvement of a type-8 avian adenovirus in the etiology of inclusion body hepatitis, *Avian Dis.*, 21: 25-38, 1977.
- 85-DHILLON, A. S., KIBENGE, F. S. B.: Adenovirus infection associated with respiratory disease in comercial chickens, *Avian Dis.*, 31: 654-657, 1987.

- 86-TAKASE, K., MARUYAMA, T., NONAKA, F., YAMADA, S.: Isolation on fowl adenovirus from tendons and tendon sheaths of chickens with leg weakness, *Jpn. J. Vet. Sci.*, 45: 517-518, 1983.
- 87-JONES, R. C., GEORGIU, K.: Experimental infection of chickens with adenoviruses isolated from tenosynovitis, *Avian Pathol*, 13: 13-23, 1984.
- 88-GOODWIN, M. A., HILL, D. L., DEKICH, M. A., PUTMAN, M. R.: Multisystemic adenovirus infection in broiler chicks with hypoglycemia and spiking mortality, *Avian Dis.*, 37: 625-627, 1993b.
- 89-REECE, R. L., PASS, D. A.: Inclusion body pancreatitis in guinea fowl (*Numida meleagris*), *Aust. Vet. J.*, 63: 26-27, 1986b.
- 90-MORI, F., TOUCHI, A., SUWA, T., ITAKURA, C., HASHIMOTO, A., HIRAI, K.: Inclusion bodies containing adenovirus-like particles in the kidneys of psittacine bird, *Avian Pathol.*, 18: 197-202, 1989.
- 91-REECE, R. L., BARR, D. A., GRIX, D. C., FORSYTH, W. M., CONDRSON, R. J., HINDMARSH, M.: Observation on naturally occurring inclusion body hepatitis in Victorian chickens, *Aust. Vet. J.*, 63: 201-202, 1986a.
- 92-CHRISTENSEN, N. H., SAIFUDDIN, Md.: A primary epidemic of inclusion body hepatitis in broilers, *Avian Dis.*, 33: 622-630, 1989.
- 93-KLUCINSKI, W., SZELESZCZUK, P., BORZEMSKA, W., MALICKA, E.: Hematologic and biochemical changes in blood of chicken in the course of natural infection with the virus of inclusion body hepatitis, *Ann. Warsaw Agrout. Univ. Vet. Med.*, 13: 63-68, 1986.
- 94-ITAKURA, C., YASUBA, M., GOTO, M.: Histopathological studies on inclusion body hepatitis in broiler chickens, *Jap. J. Vet. Sci.*, 36: 329-340, 1974.
- 95-MORADIAN, A., THORSEN, J., JULIAN, R. J.: Single and combined infections of specific pathogen free chickens with infectious bursal disease virus and an intestinal isolate of reovirus, *Avian Dis.*, 34: 63-72, 1990.
- 96-TÜRKER, H.: Bilimsel Yöntemleriyle Tavuk Besleme, İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi, İstanbul, 1988, 118-123.

- 97-COLES, E. H.: Veterinary Clinical Pathology, Fourth Edition, W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1986, 434-435.
- 98-FLORIAN, R. O., TRILLO, A.: Identification of Pneumocystis carinii by quick hematoxylin and eosin smear, Histotechn., 14: 179-180, 1991.
- 99-LUNA, L. G.: Manual of histologic staining methods of the armed forces, Institute of pathology, Ed. Luna, L. G., Mc Graw-Hill Book Company press., 1968.
- 100-HENRY, C. W., BREWER, R. N., EDGAR, S. A.: Studies on Infectious Bursal Disease in chickens, 2. Scoring microscopic lesions in the bursa of Fabricius, thymus, spleen and kidney in Gnotobiotic and battery reared White Leghorns experimentally infected with Infectious Bursal Disease Virus, Poult. Sci., 59: 1006-1017, 1980.
- 101-SÜMBÜLOĞLU, K., SÜMBÜLOĞLU, V.: Biyoistatistik, Özdemir Basım, Yayım ve Dağıtım Ltd. Şti., Ankara, 1995.
- 102-SAIFUDDIN, Md., WILKS, C. R., MURRAY, A.: Characterisation of avian adenoviruses associated with Inclusion Body Hepatitis, New Zealand Vet. J., 40: 52-55, 1992.
- 103-KEFFORD, B., BORLAND, R., SLATTERY, J. F., GRIX, D. C.: Serological identification of avian adenoviruses isolated from cases of Inclusion Body Hepatitis in Victoria, Australia, Avian Dis., 24: 998-1006, 1980.
- 104-GALLINA, A. M., WINTERFIELD, R. W., FADLY, A. M.: Adenovirus infection and disease, II. Histopathology of natural and experimental disease, Avian Dis., 17: 343-353, 1973.
- 105-KLOPP, S., ROSENBERGER, J. K., KRAUSS, W. C.: Diagnosis of Inclusion Body Hepatitis and Hemorrhagic Anemia Syndrome in Delmarva broiler chickens, Avian Dis., 19: 608-611, 1975.
- 106-YILMAZ, B.: Fizyoloji, Taş Kitapçılık Ltd. Şti. Hacettepe-Ankara, sayfa 186, 1984.

TEŞEKKÜR

Tez konusunun tesbitinde ve çalışmam sırasında değerli yardım ve görüşlerini hiç bir zaman esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. M. Müfit KAHRAMAN'a en içten teşekkürlerimi sunarım. Çalışmamın deneysel bölümünde sürekli yardımcı olan Sayın Araş. Gör. İ. Taci CANGÜL ve kesitlerin alınmasındaki yardımlarından ötürü Sayın Sağlık Teknisyeni Mehmet Ali KARAHAN ile tüm Anabilim Dalı'mız personeline teşekkür ederim. Gerek deneme, gerekse yazım sırasındaki yardımlarından dolayı Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Merkezi'nde görevli, sınıf arkadaşım, Sayın Veteriner Hekim Faruk KÜÇÜKYILDIZ'a, yem temininde yardımcı olan Sayın Veteriner Hekim Emre BAHADIROĞLU'na, civciv temininde yardımcı olan Sayın Doktor Veteriner Hekim Ayşegül GENÇ'e, reizolasyon çalışması sırasında yardımcı olan Manisa Tavuk Hastalıkları Araştırma ve Aşı Üretim Enstitüsü'nden Sayın Doktor Veteriner Hekim Fethiye ÇÖVEN ile Sayın Doktor Veteriner Hekim Olcay TÜRE'ye, istatistik hesaplarının yapılmasında yardımcı olan U. Ü. Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı'ndan Araş. Gör. İlker ERCAN'a, U. Ü. Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Merkezi idareci ve hizmetlileri ve çalışmam sırasında emeği geçen herkese teşekkürlerimi sunarım.

Gerek öğrencilik, gerekse doktora eğitimimin ilk döneminde danışmanlığımı yapan Sayın Hocam Prof. Dr. Erdoğan ERTÜRK'ü rahmetle anarım.

Ayrıca bütün hayatım boyunca bana olan güven ve destekleri için çok değerli aileme teşekkür eder, minnettarlıklarımı sunarım.

ÖZGEÇMİŞ

1970 yılında Muş'ta doğdum. 1980 yılında Bursa ili Yenişehir ilçesi Çeltikçi Köyü İlkokulu'ndan mezun oldum. 1986 yılında Bursa Yıldırım Bayazıt Lisesi'ni bitirdim. Aynı yıl Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nde başladığım yüksek öğrenimimi 1991 yılı Haziran'ında tamamladım. 1991 yılı Ekim ayında Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nde doktora eğitimime başladım. 1992 yılı Ocak ayından itibaren Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktayım. Türk Elektron Mikroskopi Derneği ve Türkiye Veteriner Mikrobiyoloji Derneği üyesiyim.