

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

**Adana İlinde Serbest Dolaşan Köy Tavuklarında Enfeksiyöz
Bronşit Virüsünün Epidemiyolojisi, Moleküler Tanısı ve
Filogenetik Analizi**

ROAA LATEEF RADHI AL SAEDI

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Ekim, 2025

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZ ONAYI

**Adana İlinde Serbest Dolaşan Köy Tavuklarında Enfeksiyöz
Bronşit Virüsünün Epidemiyolojisi, Moleküler Tanısı ve
Filogenetik Analizi**

ROAA LATEEF RADHI AL SAEDI

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Bu Doktora Tezi 03/10/2025 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Değerlendirilmiş
ve Oy Birliği / Oy Çokluğu ile Kabul Edilmiştir.

Jüri : Doç. Dr. Bilge Kaan TEKELİOĞLU (Danışman)
: Prof. Dr. Yasemen YANAR
: Prof. Dr. Göksel ERBAŞ
: Prof. Dr. Beyza Hatice ULUSOY
: Dr. Öğrt Üyesi Çağrı AVCI

Bu Tez Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalında Hazırlanmıştır.
Tez No:

Prof. Dr. Sadık DİNÇER
Enstitü Müdürü

Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: TDK-2021-13954

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak
gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

İÇİNDEKİLER

ÖZ	I
ABSTRACT.....	I
TEŞEKKÜR.....	II
ÇİZELGELER DİZİNİ	III
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	IV
SEMBOLLER VE KISALTMALAR	VI
1. GİRİŞ	1
1.1. Serbest Gezen Tavuklar	1
1.1.1. AviAn EnfeksiYöz BronşıTıS Hastalığı.....	2
1.1.2. Enfeksiyon ve Bulaşma	4
1.1.3. Epidemiyoloji	5
1.1.4. Hastalığın Korunma ve Kontrolü	6
1.2. Avian Enfeksiyöz Bronşit Virüsü.....	6
1.2.1. Enfeksiyöz Bronşit Virüsü ve Suş Varyasyonları	6
1.2.2. Tavuk Enfeksiyöz Bronşit Virüsünün (IBV) Yaygınlığı	8
1.3. Enfeksiyöz Bronşit Virüsünün (IBV) Teşhisi.....	9
1.3.1. Virüs İzolasyonu	9
1.3.2. IBV Genomunun Keşfi	10
1.4. Konvansiyonel PCR ile Gerçek Zamanlı PCR Arasındaki Farklar – Tespit ve Tanıdaki Önemi	11
1.5. Moleküler Tanıda Spektrofotometrelerin Kullanımı	11
1.6. Adana İli/Türkiye'de AvCoV'lerin yaygınlığının incelenmesinin önemi.....	12
1.7. IBV'de S1 Geninin Önemi.....	12
1.8. Kırsal Kümes Hayvancılığında Benzersiz Epidemiyolojik Özellikler.....	12
1.9. Türkiye'de IBV Araştırmalarının Önemi.....	12
1.10. Biyogüvenlik ve global literatür değerlendirmesi.....	13
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	15
3. MATERYAL VE METOT	19
3.1. Örnekleme ve Örneklerin Toplanması	19
3.1.1. Örneklem Sayısının Hesaplanması.....	19
3.1.2. Örnekleme Büyüklüğü.....	20
3.1.4. Gerçek Zamanlı Ters Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) ile Avian Enfeksiyöz Bronşit Virüsünün (IBV) Tespiti	25
3.1.5. Viral RNA'nın Kantifikasyonu ve Saflık Değerlendirmesi.....	26
3.1.7. Analiz ve Kontroller	26

3.1.8. Optimizasyon Çalışmaları	26
4. BULGULAR VE TARTIŞMALAR	33
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	63
KAYNAKLAR	65
ÖZGEÇMİŞ	81
EKLER.....	83
Ek Çizelge A: Bu çalışmada kullanılan ticari kitlerin türleri ve özellikleri:	85
Ek Çizelge B: PureLink™ Viral RNA/DNA Mini Kit'in bileşenleri ve miktarları aşağıdaki Çizelgede sunulmuştur.	85
Ek Çizelge C: RT-PCR Deneylerinde kullanılan yardımcı ürünler, miktarları ve katalog numaraları.....	85
Ek Çizelge D: OneScript® Plus cDNA Sentez Kiti bileşenleri	86
Ek Şekil A1: IBV saha izolatları ve referans suşlarının çoklu dizi	87
Ek Şekil A2: IBV saha izolatları ve referans suşlarının çoklu dizi hizalaması, S1 geninin 101–200 nükleotidleri.....	88
Ek Şekil A3: IBV saha izolatları ve referans suşlarının çoklu dizi hizalaması, S1 geninin 201–300 nükleotidleri.....	89
Ek Şekil A4: IBV saha izolatları ve referans suşlarının çoklu dizi hizalaması, S1 geninin 301–400 nükleotidleri.....	90

**Adana İlinde Serbest Dolaşan Köy Tavuklarında
Enfeksiyöz Bronşit Virüsünün Epidemiyolojisi, Moleküler
Tanısı ve Filogenetik Analizi**

ROAA LATEEF RADHI AL SAEDI

Danışman: Doç. Dr. Bilge Kaan TEKELOĞLU

Biyoteknoloji Anabilim Dal

ÖZ

Avian enfeksiyöz bronşit (IB), enfeksiyöz bronşit virüsü (IBV) tarafından oluşturulan ve kümes hayvancılığı endüstrisinde ciddi ekonomik kayıplara yol açan oldukça bulaşıcı bir hastalıktır. Bu çalışma, Türkiye'nin Adana ilindeki köy tavuğu sürülerinde IBV dolaşımını araştırmıştır. Adana ilinin on iki ilçesinden alınan toplam 390 trakeal ve sekal swap örneği, 65 havuzda birleştirilerek RT-PCR yöntemiyle test edilmiştir. Genel olarak 15 örnek (%23,07) IBV pozitif olarak belirlenmiştir. En yüksek prevalans Yumurtalık, Karataş ve Pozantı ilçelerinde tespit edilirken, bazı ilçelerde ise pozitif sonuca rastlanmamıştır. Sahadan elde edilen on beş pozitif izolat dizilenmiş ve GenBank veri tabanına (PP970560.1–PP970574.1) kaydedilmiştir. IBV'nin kısmi S1 gen bölgesine yönelik filogenetik ve BLAST analizleri, yüksek nükleotid benzerliği gösteren kümeler (>%95) ile İsrail-benzeri suş IS/1494/06'ya düşük benzerlik gösteren, ancak diğer izolatlarla yüksek BLAST skorlarıyla ayrılan soyların birlikte varlığını ortaya koymuştur. Bu sonuçlar, Adana ilindeki serbest dolaşan tavuk sürülerinde farklı IBV genotiplerinin bir arada bulunduğunu doğrulamaktadır. Elde edilen bulgular, sahada dolaşımda bulunan IBV'nin yeni veya aşından kaçan varyantlarının tespitine yönelik moleküler tarama ve tanımlama çalışmalarının düzenli olarak yapılmasının önemini ve gerekliliğini desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: Avian enfeksiyöz bronşit virüsü, IBV, Moleküler epidemiyoloji, RT-PCR, Sanger sekanslama, BLAST analizi, Filogenetik analiz.

CUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

PhD THESIS

**Epidemiology, Molecular Identification, and Phylogenetic Analysis of
Infectious Bronchitis Virus in Free-Range Village Chickens in Adana
Province**

ROAA LATEEF RADHI AL SAEDI

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Bilge Kaan TEKELOĞLU

Department of Biotechnology

ABSTRACT

Avian infectious bronchitis (IB) is a highly contagious disease caused by the infectious bronchitis virus (IBV), leading to significant economic losses in the poultry industry. This study investigated the circulation of IBV among village chicken flocks in the Adana province of Türkiye. A total of 390 tracheal and cecal swab samples were collected from twelve districts of Adana and pooled into 65 sample groups, which were subsequently tested using RT-PCR. Overall, 15 samples (23.07%) were found to be positive for IBV. The highest prevalence was detected in the districts of Yumurtalık, Karataş, and Pozantı, while some districts tested entirely negative. Fifteen positive field isolates were sequenced and deposited in the GenBank database (accession numbers PP970560.1–PP970574.1). Phylogenetic and BLAST analyses of the partial S1 gene region revealed the coexistence of strains showing high nucleotide similarity (>95%) within distinct clusters, including lineages with low similarity to the Israel-like strain IS/1494/06 but high BLAST scores with other isolates. These results confirm the simultaneous presence of multiple IBV genotypes among free-ranging chicken flocks in Adana. The findings emphasize the importance and necessity of regular molecular surveillance and characterization studies to monitor the emergence of novel or vaccine-escape IBV variants circulating in the field.

Keywords: Avian Infectious bronchitis virus, IBV, Molecular epidemiology, RT-PCR, Sanger sequencing, BLAST analysis, Phylogenetic analysis.

TEŞEKKÜR

Öncelikle, bu tezin tamamlanması birçok kişinin desteğiyle mümkün olmuştur. Hepsine en içten şükranlarımı sunarım.

Değerli danışmanım Doç. Dr. Bilge Kaan TEKELOĞLU'na özverili rehberliği, sürekli desteği, değerli tavsiyeleri, motivasyonu, engin bilgisi ve süreç boyunca gösterdiği sabrı için gönülden teşekkür ederim. Onun rehberliği, derslerde, araştırmada ve bu tezin yazım sürecinde bana yol gösterici oldu. Tüm doktora çalışmalarım sürecinde geçen yıllar boyunca hepimizi yakından ve derinden etkileyen COVID-19 pandemisi ve Kahramanmaraş merkezli büyük Türkiye depremi gibi büyük afetlerin neden olduğu olumsuzluklara rağmen başından sonuna kadar yönlendirmeleri ile hem akademik hem de insani klavuzluğu sayesinde çalışmaların en uygun şekilde yürütülebilmesi benim için büyük bir motivasyon kaynağıydı.

Ayrıca, akademik eğitimim boyunca bana mükemmel bir öğrenim ortamı sunan ve sürekli teşvik eden Prof. Dr. Yasemin YANAR'a, tezim sırasında yol gösterici ve faydalı akademik bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen Prof. Dr. Göksel ERBAŞ'a, tezimde kullandığım IBV pozitif kontrollerini gönderen Prof. Dr. Nuri TURAN'a şükranlarımı sunarım.

Rahmetli anneme (ruhu şad olsun) ve her zaman dualarıyla yanımda olan babama, bana destek duvarı olan aileme (babam, üvey annem, kardeşlerim), ilk hayranıma ve huzur kaynağıma, sevgili eşime, bana her şeyin en iyisini sunarak hayallerimin peşinden gitmem için güç verdiği için teşekkür ederim. Ayrıca, akademik ve kişisel hayatım boyunca bana sürekli destek, manevi rehberlik ve koşulsuz sevgi veren sevgili amcam Ayad Radhi Al Saedi ve halam Kifah Jabbar Al Saedi'ye minnettarlığımı ifade etmek isterim.

Çalışmalarım boyunca araştırma sürecindeki yardım ve bilgilerini esirgemeyen Dr. Öğrt. Üyesi Çağrı AVCI, Muhammet Enes ASLAN, Fatıma UZAN ve Tuğrulhan ÖZEN'e teşekkür ederim.

Her daim yanımda olan, bana rehberlik eden, yardımcı olan ve destekleyen yol arkadaşım Huda Ali Mohammed Ali'ye özel bir teşekkür borçluyum.

Bana Doktora tezimin çalışmalarını bitirebilme, çalışmalar sırasında sağlık, hikmet, hidayet, güç, iyi bir aile, ilham verici hocalar ve destekleyici dostlar bahsettiği için Allah'a şükrederim.

Son olarak, tüm hocalarıma, arkadaşlarıma, meslektaşlarıma ve Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim dalı ile Ceyhan Veteriner Fakültesi öğretim üyeleri ile ve personeline verdikleri destek, yardım ve tavsiyeler için teşekkür ederim.

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. IBV tespiti için kullanılan farklı ilçelerden toplanan örneklerin özeti; tavuk sayısı, vaka tipi, svab türü ve havuzlanmış örnekler dahil	24
Çizelge 3.2. Bu çalışmada kullanılan Avian Enfeksiyöz Bronşit Virüsünün (IBV) kısmi S1 genini hedefleyen primer ve prob dizileri.....	25
Çizelge 3.3. Enfeksiyöz Bronşit Virüsü'nün (IBV) S1 genini hedefleyen konvansiyonel PCR tespitinde kullanılan primer dizileri.....	30
Çizelge 4.1. Adana İli'nin farklı ilçelerinde trakeal ve sekal svaplara dayalı olarak tespit edilen IBV-pozitif havuzlanmış örneklerin sayısı ve yüzdesi.....	35
Çizelge 4.2 Adana ilinin farklı ilçelerinden toplanan IBV-pozitif havuzlanmış trakeal ve çekal örneklerin sayısı ve yüzdesi.....	36
Çizelge 4.3. Adana İli'nin her ilçesinde IBV-pozitif havuzlanmış örneklerin prevalans oranı	36
Çizelge 4.4. IBV-pozitif örneklerin nükleik asit konsantrasyonu ile saflık oranlarını (A260/280 ve A260/230) gösteren Nanodrop spektrofotometri sonuçları	37
Çizelge 4.5. Adana İlinden toplanarak incelenen tavuk örneklerinden elde edilen IBV izolatlarının kısmi S1 genine ait temel dizi bilgileri.....	46
Çizelge 4.6. IBV S1 izolatları için BLAST'taki en yüksek eşleşmeler (filogenetik ağaç referanslarına dayalı).	53
Çizelge 4.7. Yerel IBV izolatları ile İsrail referans suşu EU780077.2 (IS/1494/06) arasındaki ikili nükleotid dizi benzerliği (%) — S1 alt birim geninin (kısmi cds) BLAST analizi temel alınarak. EU780077.2 erişim numarası: 1598 bp uzunlu	54

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Kırsal bölgelerde serbest dolaşan köy tavukları; çalışmada kullanılan saha örneklerinin temel kaynağını göstermektedir.	2
Şekil 1.2. Tavuklarda Enfeksiyöz Bronşit'in solunum sistemi belirtileri	4
Şekil 1.3. IBV'nin tavukların performansı üzerindeki etkisi	4
Şekil 1.4. Enfeksiyöz Bronşit Virüsü (IBV)	8
Şekil 3.1. Adana ilinin coğrafi haritası	20
Şekil 3.2-A. IBV enfeksiyonundan şüphelenilen kırsal serbest dolaşan bir tavuktan trakeal svab örneğinin saha koşullarında toplanması.....	21
Şekil 3.2-B. Saha örnekleme sırasında başka bir tavuktan trakeal svab alınması; farklı bir açıdan uygulanan svablama tekniği görülmektedir.	23
Şekil 3.3-A: Kırsal alanda serbest dolaşan ve IBV enfeksiyonundan şüphelenilen bir tavuktan sekal svab örneğinin saha koşullarında alınması.	22
Şekil 3.3-B: Kırsal alanda serbest dolaşan başka bir tavuktan IBV enfeksiyonundan şüphelenilen sekal svab örneğinin saha koşullarında alınması; örnekleme işlemi farklı bir birey üzerinde gösterilmektedir.	24
Şekil 3.4. IBV enfeksiyonundan şüphelenilen ölü tavuklardan nekropsi ve doku örneklerinin toplanması.....	23
Şekil 3.5-A. StepOnePlus™ Gerçek Zamanlı PCR Sistemi (Applied Biosystems, ABD) üzerinde görüntülenen gerçek zamanlı RT-PCR ısı döngü programı.....	27
Şekil 3.5-B. StepOnePlus™ Gerçek Zamanlı PCR Sistemi'nin (Applied Biosystems, ABD) bilgisayar arayüzünde görüntülenen Greek zamanlı RT-PCR ısı döngü programı	30
Şekil 3.6-A. IBV tespiti sırasında laboratuvarında kullanılan StepOnePlus™ Gerçek Zamanlı PCR Sistemi'nin (Applied Biosystems, ABD) çalışması.	28
Şekil 3.6-B. StepOnePlus™ Gerçek Zamanlı PCR Sistemi'nde (Applied Biosystems, ABD) gerçek zamanlı RT-PCR amplifikasyon sonuçlarının izlenmesi.	31
Şekil 3.7. IBV çalışması sırasında laboratuvarındaki araştırma ekibi üyeleri	29
Şekil 4.1. Türkiye'nin Adana İli'ndeki farklı ilçelerde havuzlanmış örneklerin dağılımı	33
Şekil 4.2-A. Türkiye'nin Adana İli'ndeki ilçelerde IBV-pozitif havuzlanmış örneklerin prevalans oranı.....	33
Şekil 4.2-B. Adana'daki ilçelere göre IBV-pozitif havuz örneklerinin prevalans oranı.	36
Şekil 4.3-A. Pozitif IBV örneklerini gösteren gerçek zamanlı RT-PCR analizine ait amplifikasyon eğrisi.	37
Şekil 4.3-B. Ek IBV pozitif örneklerine ait gerçek zamanlı RT-PCR analizinin amplifikasyon eğrisi	40

Şekil 4.4.	Kanatlı Örneklerinde Enfeksiyöz Bronşit Virüsü (IBV)'nın S1 Genini Amplifiye Eden PCR Ürünlerinin (464 bp) Agaroz Jel Elektroforezi, C= Pozitif Kontrol, 16.kuyu= Negatif Kontrol	39
Şekil 4.5-A.	Sanger Dizileme Yöntemi ile 3\ _XCE1 Örneğinden Elde Edilen Kısmi Nükleotid Sekansının Elektrogram Çıktısı	44
Şekil 4.5-B.	Sanger Dizileme Yöntemi ile 3\ _XCE2 Örneğinden Elde Edilen Kısmi Nükleotid Sekansının Elektrogram Çıktısı	47
Şekil 4.6.	IBV izolatları ve referans suşlarının kısmi spike (S) geninin çoklu	47
Şekil 4.7.	Kısmi S1 geninin yüksek doğruluklu küresel hizalamasına dayalı olarak 15 IBV saha izolatının ikili yüzde benzerlik ısı haritası.....	48
Şekil 4.8.	Çiftli dizi benzerliğine (1 – benzerlik metriği) dayalı olarak 15 IBV saha izolatının hiyerarşik kümeleme dendrogramı	49
Şekil 4.9.	Saha izolatları ve referans suşlardan elde edilen IBV kısmi spike (S1) gen dizilerinin filogenetik ağacı	50
Şekil 4.10.	Saha izolatları ile İsrail suşu (EU780077.2) arasındaki S1 geninin ortak kısaltılmış bölgesine dayalı Neighbor-Joining filogenetik ağacı (ikili kimlik mesafeleri kullanılarak oluşturulmuştur).	56
Şekil 4.11.	Türkiye Kuş Göç Yolları Haritası.....	61

SEMBOLLER VE KISALTMALAR

AvCoV	: Avian Koronavirüs
AvCov	: Avian Koronavirüs
BLAST	: Basic Local Alignment Search Tool (Temel Lokal Hizalama Aracı)
cDNA	: Tamamlayıcı DNA
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
IB	: Enfeksiyöz Bronşit
IBV	: Enfeksiyöz Bronşit Virüsü
IHA	: Hemaglütinasyon İnhibisyonu
NCBI	: Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi
ORFs	: Açık Okuma Çerçeveleri
PBS	: Fosfat Tamponlu Salın
RFLP	: Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi
RNA	: Ribonükleik Asit
RT-PCR	: Ters Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu
S proteini	: Spike proteini
SN	: Seronötralizasyon
TUIK	: Türkiye İstatistik Kurumu
UTR	: Çevrilmemiş Bölge
WII	: Yıkama Tamponu

1. GİRİŞ

1.1. Serbest Gezen Tavuklar

Serbest gezen Gine tavuğu ve yerli tavuklar, çiftçiden minimum sermaye girişi ile yetiştirilmektedir. Bu hayvanlar çoğunlukla kendi başlarına yem aramakta, yalnızca zaman zaman mısır, darı gibi tahıllar ve evsel mutfak atıkları ile desteklenmektedir (Aboe ve ark., 2006; Avornyo ve ark., 2016). Genellikle özel bir barınakları bulunmamakta, ağaçlarda, mutfakta ya da avluda barınmakta ve böylece hava koşullarının ve yırtıcıların tehdidine maruz kalmaktadırlar. Barınak sağlandığında ise çoğu zaman küçük ve aşırı kalabalık olmaktadır (Dahouda ve ark., 2007; Boko ve ark., 2011). Sağlanan sınırlı bakım koşullarına rağmen, bu yerli ırkların dayanıklı oldukları ve çeşitli kanatlı hastalıklarına karşı direnç gösterdikleri düşünülmektedir. Ancak literatür, yerli tavukların Newcastle, Gumboro, koksidiyoz, çiçek hastalığı, bulaşıcı koriza, kronik solunum yolu hastalıkları ve iç-dış parazitler gibi yaygın kanatlı hastalıklarına duyarlı olduklarını ve yıllık kayıpların %50–70 gibi yüksek oranlara ulaşabileceğini ortaya koymaktadır (Gyening, 2006; El-Yuguda ve ark., 2007; Yakubu ve ark., 2014).

Serbest gezen tavuklar, farklı hastalıkların (enfeksiyöz bronşit, avian influenza ve Newcastle hastalığı gibi) kümesler arasında yayılımı ve devamlılığında en önemli kaynaklardan biridir. Bu tavuklar, kanatlı bulaşıcı hastalıklarının epidemiyolojisinde önemli bir role sahiptir. Köy sürülerinin çoğu karışık yaş gruplarından oluşmakta, küçük ölçekli olmakta ve çoğunlukla serbest otlamaya dayalı beslenmektedir. Çiftçiler, farklı hanelerden tavukları bir araya getirmekte, bu da hastalıklara maruziyeti artırmaktadır. Ayrıca, serbest gezen tavuklarda enfeksiyöz bronşite (IB) karşı herhangi bir kontrol veya önleme stratejisi uygulanmamaktadır (Mahzounieh ve ark., 2006; Al-Shekaili ve ark., 2015; Saadat ve ark., 2014; Shima ve ark., 2018).

Ticari kanatlı işletmeleri sahipleri, çevredeki serbest gezen sürülerden bulaşabilecek hastalık riskinden endişe duymaktadır. Serbest gezen tavuklar, açık alanlarda dolaşabilmeleri ve yabani kuşlarla yakın temas halinde yaşamaları nedeniyle bulaşıcı hastalıklara daha duyarlıdır (Karabozhilova ve ark., 2012; Pohjola ve ark., 2015; Pohjola ve ark., 2017). Ayrıca, bazı durumlarda bu tavuklar kesilerek komşulara veya tanıdıklara satılmaktadır. Ticari sürülerde çeşitli biyogüvenlik önlemleri uygulanmasına rağmen, serbest gezen veya köy tavukçuluğunda hastalık önleme için herhangi bir veterinerlik protokolü bulunmamaktadır. Birçok durumda serbest gezen sürüler ticari kümeslerin yakınında yer almakta ve solunum yolu hastalıkları için rezervuar görevi görebilmektedir (Derksen ve ark., 2018; Batista ve ark., 2020).

Öte yandan, serbest gezen sürülerde hayvan yoğunluğunun genellikle düşük olması, hastalık bulaşma riskini azaltmaktadır. Nadiren de olsa yeni enfeksiyöz hastalıkların önce serbest gezen sürülerde ortaya çıktığı bilinmektedir. Ancak epidemiyolojik çalışmalar, bu sürülerin bulaş zincirindeki rollerinin çoğunlukla sınırlı olduğunu göstermektedir (Capua ve ark., 2002; Bavinck ve ark., 2009).



Şekil 1.1. Kırsal bölgelerde serbest dolaşan köy tavukları; çalışmada kullanılan saha örneklerinin temel kaynağını göstermektedir.

1.1.1. AviAn EnfeksiYöz BronşiTiS Hastalığı

Enfeksiyöz bronşit (IB), tavukların tüm yaş gruplarını etkileyebilen, akut ve oldukça bulaşıcı üst solunum yolu hastalığı olup, kümes hayvancılığı endüstrisi için ciddi bir ekonomik tehdit oluşturmaktadır. Hastalığın etkeni, Nidovirales takımında yer alan Coronaviridae familyasına ve Gammacoronavirus cinsine ait olan Enfeksiyöz Bronşit Virüsü'dür (IBV). Hastalık ilk olarak 1931'de Schalk ve Hawn tarafından tanımlanmıştır. Günümüzde, gelişmiş ticari kümes hayvancılığı sektörüne sahip birçok ülkede endemik hale gelmiştir. Küresel ekonomik etkisi, yüksek patojeniteli kuş gripi sonrası en yıkıcı ikinci kanatlı hastalık olarak rapor edilmiştir (**TAFS-Forum, 2011**).

Solunum sistemi hastalıkları içerisinde IBV enfeksiyonları, yoğun kümes hayvancılığı yapılan her ülkede önemli bir sorun olarak bilinmektedir. Bir ülkede IBV'nin önemsiz görülmesi genellikle Newcastle hastalığı gibi diğer enfeksiyonların daha ciddi tehdit oluşturmasından kaynaklanmaktadır (**Cook ve Mockett, 1995b**).

Tüm yaş gruplarındaki civcivler IBV'ye duyarlıdır; ancak genç civcivler yaşlılara göre daha hassastır. Enfekte sürülerde morbidite oranı %100'e ulaşabilirken mortalite; sürünün yaşı, bağışıklık durumu, sekonder enfeksiyonların varlığı, bakım koşulları ve çevresel faktörlere bağlı olarak değişmektedir (**Cavanagh ve Gelb, 2008**).

En belirgin klinik bulgular solunum sistemi ile ilgilidir. Klinik belirtilerin şiddeti; konakla ilişkili faktörler (yaş, cinsiyet, tür ve bağışıklık düzeyi), virüsle ilgili özellikler (suş, virülens ve doz), çevresel koşullar (toz, amonyak ve stres) ile işletmenin yönetim ve biyogüvenlik düzeyi tarafından etkilenmektedir (**Ganapathy, 2009**). Hastalığın diğer formları ise böbrek, üreme ve gastrointestinal

sistemlerle ilişkilidir. Virüsün enfekte erkek tavukların testislerinden ve semeninden izole edilebildiği, bu nedenle erkeklerde infertiliteye neden olabildiği bildirilmiştir (**Jones, 2010a**).

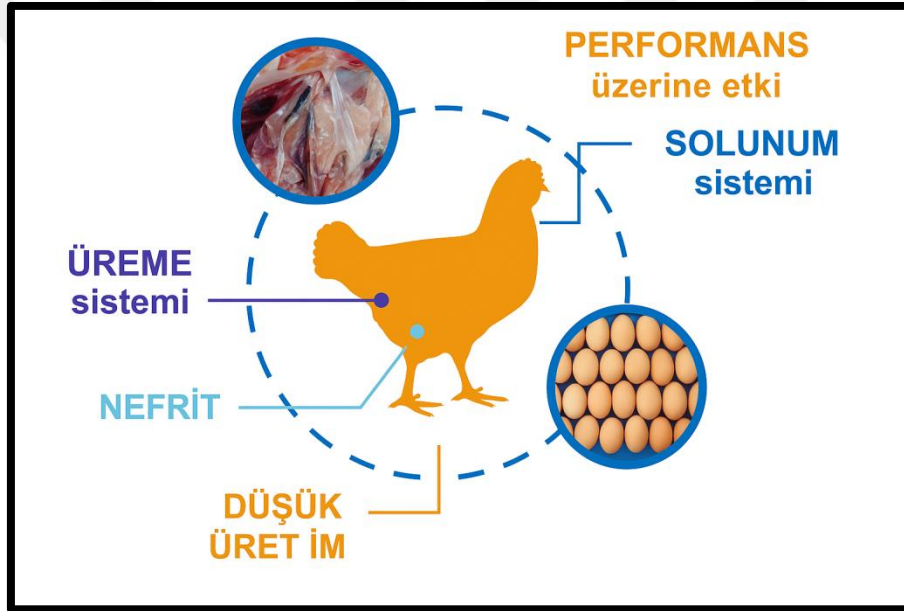
Altı haftalıktan küçük civcivlerde tipik belirtiler arasında hırıltılı solunum, öksürük, trakeal râle, burun akıntısı, halsizlik, depresyon, kümelenme, solunum güçlüğü (özellikle gece istirahat sırasında belirgin), sulu gözler ve ağır vakalarda hafif sinüs şişliği yer almaktadır (**Cavanagh ve Gelb, 2008; Ganapathy, 2009**). Genç civcivler IBV nedeniyle ölebilirken, beş haftalıktan büyük tavuklarda komplikasyon olmadan seyreden enfeksiyonlar genellikle daha hafif geçmektedir. Ancak her yaş grubunda, IBV'nin diğer patojenlerle birlikte bulunması durumunda hastalık şiddeti artmaktadır (**Cavanagh, 2007; Awad ve ark., 2014**).

Nefropatojenik IBV suşları tipik olarak solunum belirtileriyle başlamakta, ardından artan su tüketimi, sulu dışkı ve böbrek hasarına bağlı ölümlerle seyretmektedir (**Raj ve Jones, 1997**). Bu tip enfeksiyonlarda ölümler genellikle enfeksiyondan 6–16 gün sonra görülmektedir. IBV ile enfekte yumurtacı tavuklarda yumurta veriminde azalma ve genç dönemde maruz kalındığında kalıcı ovidukt hasarına bağlı olarak düşük kaliteli yumurta üretimi gözlenmektedir (**Cavanagh ve Naqi, 2003; Fabricant, 1998**). Yumurtadaki verim kaybı ve kalite düşüşü, suşun virülensine ve yumurtlama dönemine bağlı olarak değişmektedir (**Raj ve Jones, 1997**). Enfekte tavukların yumurtaları ince kabuklu, pürüzlü veya şekilsiz olabilir; dıştan normal görünen yumurtaların iç kalite özellikleri bozulmuş, albümeni sulu olabilir. Bu durum yumurta veriminde %10'a kadar azalmaya yol açabilmektedir (**Cavanagh ve Naqi, 2003**).

Sekonder enfeksiyonlar da hastalığın şiddetini belirleyen en önemli faktörlerden biridir. Örneğin, IBV ve *Mycoplasma synoviae* ile birlikte enfekte olan tavuklarda hava kesesi iltihabı (airsakülitis) görülürken, tek başına enfeksiyonlarda bu bulgu ortaya çıkmamaktadır (**Kleven ve ark., 1972**). *E. coli* ile ikincil enfeksiyonlar perikardit veya ölüme yol açabilir (**Smith ve ark., 1984; Avellaneda ve ark., 1994**). Ayrıca, bağışıklık baskılayıcı bir etken olan Enfeksiyöz Bursa Hastalığı Virüsü ile eş enfeksiyon IBV'ye karşı bağışıklık yanıtını zayıflatmakta, duyarlılığı artırmakta ve antikor seviyelerini azaltmaktadır (**Raj ve Jones, 1997**).



Şekil 1.2. Tavuklarda Enfeksiyöz Bronşit'in solunum sistemi belirtileri



Şekil 1.3. IBV'nin tavukların performansı üzerindeki etkisi

Enfeksiyöz Bronşit Virüsünün (IBV) kanatlı performansı, solunum, üreme ve böbrek sistemleri üzerindeki etkilerini gösteren bilgi grafiği, Ceva Poultry (Ceva Santé Animale) tarafından yayımlanan eğitim materyalinden alınmıştır. Kaynak, kanatlı aşıları ve IBV kontrolüne ilişkin bilgiler sunmaktadır. Çevrimiçi erişim: [Ceva Poultry – IBird®].

1.1.2. Enfeksiyon ve Bulaşma

Enfeksiyöz bronşit virüsü (IBV), öncelikle solunum mukozasında çoğalarak hava yoluyla yayılım göstermektedir. Bu nedenle öksürme ve hapşırma sırasında oluşan aerosoller (inhalasyon) temel bulaşma yoludur. Ayrıca kontamine yem ve suyun alınması, enfekte kümes hayvanlarının ölümleri ve kemirgenler de bulaşmada rol oynamaktadır. Bulaşma esas olarak yatay yolla meydana

gelmekte olup, bu doğrudan veya dolaylı olabilmektedir. Doğrudan bulaşmada enfekte kuşlardan sağlıklı kuşlara etken geçişi olurken; dolaylı bulaşma, kontamine ekipman ve materyaller aracılığıyla gerçekleşmekte ve bu durum uzun mesafelerde dahi bulaşma için önemli bir kaynak oluşturmaktadır. Cıvcıvlerde temas sonrası klinik belirtilerin 3 saat içinde, komşu kümelerine ise 1–2 gün içinde yayılabileceği bildirilmiştir (Cavanagh, 1997).

1.1.3. Epidemiyoloji

Günümüzde enfeksiyöz bronşit, tavuklarda dünya genelinde yayılım göstermektedir (De Wit ve ark., 2011; Jackwood, 2012). Zaman içinde yüzlerce farklı suş tanımlanmış olsa da (Cavanagh, 2007), bunlardan yalnızca birkaçı uzun süreli olarak kümes hayvancılığında hastalık etkeni olarak yerleşmiş, çoğu ise kısa sürede ortaya çıkıp kaybolmuştur (Cook ve ark., 2012). Bazı suşların kısa sürede uzun mesafelere yayıldığı, bazılarının ise sınırlı coğrafi bölgelerde kaldığı görülmektedir (Hesse, 2015). Bu nedenle, belirli bir bölgede IBV alt popülasyonlarının dinamiklerinin izlenmesi, farklı IBV suşlarının yayılma ve tutunma yeteneklerine katkıda bulunan moleküler özelliklerin ortaya çıkarılmasında önemlidir (Dolz ve ark., 2008).

IBV suşlarının bir bölgeden diğerine yayılımı, kısmen canlı kanatlı ticareti, göçmen yabani kuşlar ya da atenüe aşılarda kullanımıyla ilişkili olabilmektedir (Cavanagh, 2005; Liu ve ark., 2006). Yabani kuşlarda çeşitli AvCoV suşları saptanmış olsa da (Cavanagh, 2005; Chu ve ark., 2011), bunlar ticari tavukçuluk açısından önemli IBV suşları ile aynı değildir. Yaban kuşu türleri, yeni ortaya çıkan birçok zoonotik patojenin doğal rezervuarı olarak kabul edilmekte ve bu durum halk sağlığı açısından önemli bir tehdit oluşturmaktadır. Aynı zamanda evcil hayvanlara bulaşma riski taşıyan patojenlerin kaynağı olduklarından, söz konusu enfeksiyonların sosyo-ekonomik yansımaları da olabilmektedir. Bu nedenle yaban kuşları uzun süredir epidemiyolojik açıdan izlenmektedir. Özellikle gammakoronavirüslerin, hem kümes hayvanlarından yaban kuşlarına hem de yaban kuşlarından kümes hayvanlarına geçiş yapabildiği ve bu kuşların uzun mesafe göç etme yetenekleri sayesinde koronavirüslerin kıtalar arası yayılımında rol oynayabildiği bildirilmektedir (Al Saedi ve ark., 2022, Tekelioğlu, 2025). Antijenik varyasyon ve IBV serotipleri arasında gözlenen düşük çapraz koruma düzeyi nedeniyle, sürekli yeni serotiplerin ortaya çıkışı kontrol programlarının etkinliğini zorlaştırmaktadır (Dolz ve ark., 2008). Bu durum, özellikle yeni varyantların hızlı ve doğru şekilde teşhisi ve mevcut aşı suşları ile karşılaştırılmasının önemini vurgulamaktadır (De Wit, 2000).

IBV'nin genetik çeşitliliği Zhao ve ark. (2023) tarafından gözden geçirilmiş olup şu şekilde özetlenmektedir: RNA virüslerinin hızlı evrimi; yüksek mutasyon oranları, kısa jenerasyon süreleri ve büyük popülasyon büyüklükleriyle açıklanmakta ve son 100 yıldaki birçok viral salgının temelinde yer almaktadır (Grellet ve ark., 2022). RNA virüsleri arasında en yüksek mutasyon oranlarından birine IBV sahiptir (Thébaud ve ark., 2010; Echeverría ve ark., 2015). Özellikle S1 glikoproteininin hipervaryabl bölgelerinde mutasyon ve rekombinasyonlar sıkça meydana gelmekte

olup, bu durum yeni varyant, serotip veya genotiplerin sürekli olarak ortaya çıkmasına yol açmaktadır (Webb ve ark., 2022; Kumar ve ark., 2022).

1.1.4. Hastalığın Korunma ve Kontrolü

IBV'nin kontrolü, uygun yönetim ve uygulama programlarının bir arada yürütülmesiyle mümkündür. Bu kapsamda, “all-in/all-out” üretim periyotlarının doğru şekilde uygulanması, sürü yoğunluğunun uygun sınırdaki tutulması ve optimum hava kalitesinin sağlanması gibi önlemler yer alır (Ignjatovic ve Sapats, 2000). İlk ve en önemli savunma hattı olarak biyogüvenlik, malzeme, hayvan, atık/gübre ve personel hareketlerini düzenleyen iç ve dış tedbirlerin sıkı şekilde uygulanmasını gerektirir (Racicot ve Vaillancourt, 2017; Van Limbergen ve ark., 2018). Enfeksiyon riskini azaltmak adına, üretim döngüleri arasında yeterli boş bırakma süresi tanımak ve her döngü sonrasında etkin dezenfeksiyon yöntemleri uygulamak esastır. Çiftlikler arasındaki yakınlık veya yatay temaslar ile çevresel koşullar gibi faktörlerin de etkili olabildiği, işletme yoğunluğunun artmasıyla virüsün hava yoluyla taşınma riskinin yükselebileceği bildirilmiştir (Franzo ve ark., 2020). Yine de tek başına biyogüvenlik uygulamaları, hastalık bulaşmasını tamamen engelleyememektedir. Bu nedenle aşılama, klinik belirtileri hafifletmek ve enfeksiyon basıncını azaltmak için en etkili ve yaygın uygulamadır; ancak aşının enfeksiyonu tamamen engellemediği, sadece belirtileri hafiflettiği unutulmamalıdır (Matteo ve ark., 2020). Ticari kümes hayvancılığında**, hem canlı atenüe hem de inaktif aşılar kullanılarak kontrol sağlanmaya çalışılır. Birden fazla antijen içeren multivalent aşılar, IBV serotipleri arasında çapraz koruma olmadığı için geniş kapsamlı bağışıklık sağlayabilir (Cavanagh, 2007; Dhama ve ark., 2014). Birçok ülkede, bir günlük civcivlere düşük virülanslı IBV aşısı uygulanması, ardından içme suyuyla daha virülant bir aşı ile pekiştirme yapılması yaygındır. Düşük virülanslı aşılar, solunum sistemi reaksiyonuna neden olmasa da, solunum yolunu korumak için her zaman yeterli bağışıklık oluşturmaz (Kataria ve ark., 2005). Damızlık ve yumurtacı tavuklar ise yağ emülsiyonlu inaktif aşı yapılmadan önce canlı atenüe IBV aşısı uygulamak gerekir; yağ emülsiyonlu inaktif aşılar, yaklaşık 17 haftalık yaşta ve yumurtlama başlamadan verilmeli, yumurtlama döneminde uygulanmamalıdır (Jackwood ve ark., 2009; Liu vd., 2009). Uygun koşullarda yapılan aşılama, uzun süreli bağışıklık yanıtı oluşturabilir (Cook ve ark., 2012; Dhama ve ark., 2014; Ramakrishnan ve Deepthi, 2019).

1.2. Avian Enfeksiyöz Bronşit Virüsü

1.2.1. Enfeksiyöz Bronşit Virüsü ve Suş Varyasyonları

IBV, Coronaviridae familyası, Coronavirinae alt familyası ve Gammacoronavirus cinsine ait bir virüstür. Zarflı yapıya sahip viral genom, yaklaşık 27.5–28 kb uzunluğunda tek iplikçikli, pozitif polariteli bir RNA'dan oluşmaktadır (Cavanagh ve Gelb, 2008). Genom, 5' ve 3' UTR bölgeleri ile bir poli(A) kuyruğunu kapsar. Genomun büyük kısmı, birbirleriyle örtüşen iki açık okuma çerçevesi (ORF1a ve ORF1b) içerir. Bunlar sırasıyla büyük poliproteinler (1a ve 1ab) olarak çevrilir ve

replikasyon ile transkripsiyon kompleksinin oluşumuna katkıda bulunur (**Cavanagh, 1997; Khataby ve ark., 2016b**).

Virionlar dört ana yapısal proteinden oluşur: spike (S), zarf (E), membran (M) ve nükleokapsid (N) proteinleri (**Cavanagh, 2005**). Ayrıca iki aksesuar gen (ORF3 ve ORF5) tanımlanmıştır; bunlar sırasıyla 3a, 3b ve 5a, 5b aksesuar proteinlerini kodlar (**Lai ve Cavanagh, 1997**). Tek iplikçikli RNA virüsü olması nedeniyle, IBV hem spontan mutasyonlar hem de genetik rekombinasyon yoluyla büyük değişim kapasitesine sahiptir (**Cavanagh ve Gelb, 2008**). Bu olaylar özellikle S geninin hipervaryabl bölgelerinde gerçekleştiğinde, yeni varyantların ortaya çıkma olasılığı artmaktadır.

IBV'nin S proteinini, virionun zarf yüzeyinde çomak şeklinde çıkıntılar oluşturan ve antijenik ile immünojenik özellikler açısından en kritik proteindir. Tüm koronavirüslerde spike glikoproteini, S proteininin lipid çift tabakaya tutunmasını sağlayan dört bölge içerir. Koronavirüsler arasında S polipeptidinin büyüklüğü açısından belirgin farklılıklar vardır; bilinen en kısa S proteinini yaklaşık 1160 amino asitten oluşan IBV'ye aittir (**Williams, 2010**).

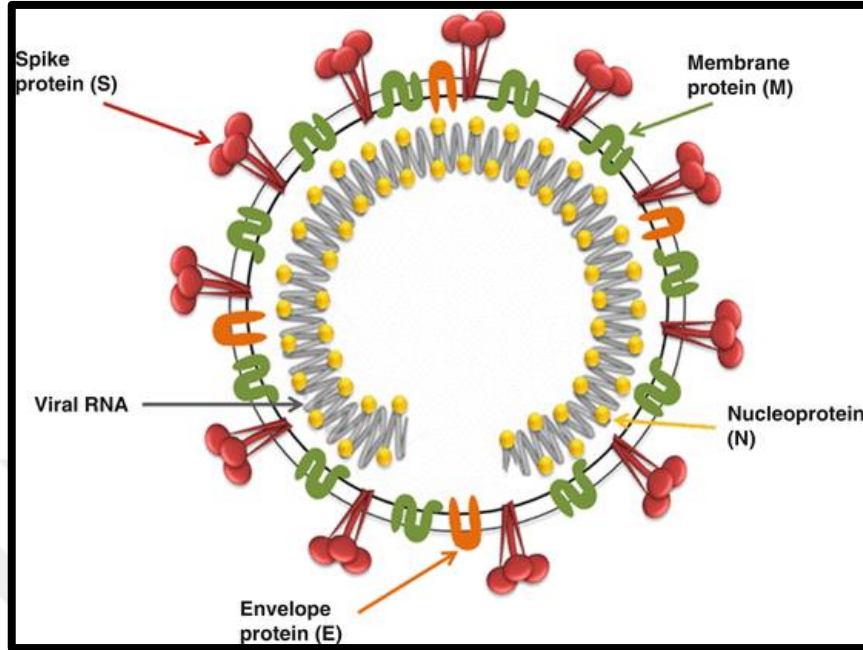
S proteinini iki alt birimden oluşan bir trimerdir: N-terminalde yer alan S1 alt birimi (535 aa) ve C-terminaldeki S2 alt birimi (627 aa) (**Cavanagh, 1997**). S1 alt birimi virüsün konak hücreye bağlanmasında rol oynar ve nötralizan antikor yanıtlarını uyarır. Bu nedenle S1 bölgesindeki mutasyonlar, farklı serotiplerin ve salgınlarla ilişkili yeni varyantların ortaya çıkmasına yol açar. S proteininin tüm gen dizisi birçok IBV suşu için sekanslanmıştır (**Jackwood ve ark., 2003; Toro ve ark., 2014; Ellis ve ark., 2018**).

S proteinini, membrana S2 ile bağlanırken S1 membranla sınırlı veya hiç temas etmez; esas olarak proteinin uç kısmını oluşturur. S1-S2 birlikteliği zayıf olup, intrapeptid disülfid bağları içerir (**Molenaar ve ark., 2020**). IBV'nin S1 alt birimi, konak bağlanması ve bağışıklık yanıtlarının hedeflenmesi açısından kritik olup, nötralizan ve hemagglütinasyon inhibisyon antikorlarını indükler (**Alvarado ve ark., 2003; Van Beurden ve ark., 2017**). Ayrıca S proteinini yüksek derecede glikozilasyona sahiptir hem S1 hem de S2 glikozile edilmiştir (**Williams, 2010**).

Günümüzde, pek çok ülkenin kendi yerel IBV varyantlarının bulunduğu ve bunların ilk izole edildikleri laboratuvar ya da araştırmacıların isimleriyle adlandırıldığı bilinmektedir (örneğin Massachusetts, Connecticut, Arkansas, D274, QX). Çoğu yeni varyant uzun süre çoğalamazken, bazıları ortaya çıkarak küresel veya bölgesel ölçekte ekonomik önem kazanabilmektedir (**Awad ve ark., 2014**). Dünya genelinde birçok IBV serotipi bulunduğundan, tavuklarda enfeksiyöz bronşit kontrolü için ilgili serotiplere uygun aşılardan kullanılması büyük önem taşımaktadır (**Saito ve ark., 2022**).

IBV'nin etkin kontrolü, yoksulluğun azaltılması, et ve yumurta yoluyla gıda güvenliğinin sağlanması ve ülke ekonomisinin desteklenmesi açısından kritik öneme sahiptir. Ülkede üretilen kümes hayvanlarının yaklaşık %20'si ticari olarak yetiştirilirken, geri kalanı geleneksel yöntemlerle

yetiştirilmektedir. Bu durum, sürülerin hastalıklara, yırtıcılara, veteriner bakım eksikliğine ve diğer sınırlılıklara maruz kalmasına yol açmaktadır (Berhanu ve ark, 2025).



Şekil 1.4. Enfeksiyöz Bronşit Virüsü (IBV)

1.2.2. Tavuk Enfeksiyöz Bronşit Virüsünün (IBV) Yaygınlığı

Amerika Birleşik Devletleri'nde 1931 yılında yeni çıkmış civcivlerden izole edilen ilk koronavirüs Enfeksiyöz Bronşit Virüsü (IBV) olmuştur (Schalk ve Hawin, 1931). Tavuklar IBV'nin doğal konaklarıdır; ancak tavus kuşu, güvercin, ördek, kaz, bıldırcın, sülün, papağan, hindi ve penguen gibi diğer kuş türlerinden de izole edilmiştir (Bande ve ark., 2017; Cavanagh ve ark., 2002; Milek ve Blicharz-Domańska, 2018). Enfeksiyöz Bronşit (IB), IBV'nin ilk izolasyonunu takiben 1990'lardan önce birçok ülkede tanımlanmış ve küresel ölçekte yaygın bir hastalık haline gelmiştir (Cavanagh, 2007; Bande ve ark., 2017). Virüsün yüksek mutasyon hızı, hızlı yayılımı ve farklı serotipler arasında yetersiz çapraz koruma nedeniyle, pek çok ülkede birden fazla serotip veya genotipin birlikte bulunması olağan bir durumdur.

IBV suşları, tam S1 gen sekansı temel alınarak altı ana genotip ve bunlara ait 32 farklı viral soy içine sınıflandırılmıştır (Valastro ve ark., 2016). Bu soyların coğrafi dağılımı ve genetik çeşitliliği büyük ölçüde değişiklik göstermektedir. Örneğin Mass-tipi, 4/91 (793B veya CR88)-benzeri, D274-benzeri, D3128, QX-benzeri ve Italy02 soyları dünya çapında yaygın olarak rapor edilmiştir (Bande ve ark., 2017). Buna karşın, GI-23 soyu (Variant-2 virüslerini içeren grup) daha çok Orta Doğu bölgesinde görülmektedir (Valastro ve ark., 2016).

Her genotipin kökeni, evrimsel süreçleri ve bulaşma dinamikleri farklılık gösterse de canlı kanatlı ticareti ve eksojen canlı aşıların kullanımı gibi ortak faktörler IBV'nin farklı ülkeler arasında yayılmasına katkıda bulunmaktadır (Abozeid, 2023; Lee ve ark., 2024). Örneğin, Avustralya

kaynaklı JAAS ve J9 aşı suşlarından türeyen GI-5 ve GI-6 genotiplerinin Çin'e giriş yapması, ülkedeki IBV popülasyonlarının genetik çeşitliliğini artıran bir unsur olmuştur (**Liu ve ark., 2006**).

IBV'nin dünya genelindeki hızlı yayılımı, kapsamlı sürveyans çalışmalarının kritik önemini vurgulamaktadır. Kanatlı sürülerinde veya ürünlerinde yürütülecek aktif sürveyans uygulamaları sayesinde yeni IBV varyantları erken dönemde saptanabilir; bu da virüsün kontrolüne katkı sağlar ve aynı zamanda evrimsel ve epidemiyolojik dinamiklerin küresel ölçekte izlenmesine destek olur (**Cavanagh, 2007**).

1.3. Enfeksiyöz Bronşit Virüsünün (IBV) Teşhisi

1.3.1. Virüs İzolasyonu

Enfeksiyöz Bronşit Virüsü (IBV) enfeksiyonunun tanısında hem geleneksel hem de daha ileri yöntemler kullanılmaktadır. Hangi testin tercih edileceği; örnek türüne, test materyalleri ve laboratuvar imkânlarının mevcudiyetine, raporlama süresine, testin amacına ve testin sahada mı yoksa laboratuvar ortamında mı gerçekleştirildiğine bağlı olarak değişmektedir (**Al Saedi ve ark., 2021**).

Virüs izolasyonu, **Ramakrishnan ve Deepthi (2019)** tarafından kapsamlı şekilde değerlendirilmiştir. Trakea, IBV enfeksiyonunun ilk hedef organı olduğundan, enfeksiyonun başlangıcından sonraki ilk hafta içerisinde trakeal svaplar ve trakea dokuları en uygun örnek materyali olarak kabul edilmektedir. Enfeksiyon başlangıcından bir haftadan fazla süre geçtiğinde ise postmortem muayenelerde kloakal svaplar veya çekal tonsiller tercih edilmektedir. Bunun nedeni, virüsün öncelikle üst solunum yollarında çoğalması ve daha sonra solunum dışı organlara yayılmasıdır. Bu süreç sonucunda virüs, trakeadan bağırsak dokularına kıyasla daha erken temizlenmektedir (**Alexander ve Gough, 1977; Jones ve Ambali, 1987; Lucio ve Fabricant, 1990**). Klinik öyküye bağlı olarak akciğer, böbrek ve ovidukt gibi diğer organlardan da örneklem yapılması gerekebilir. Ayrıca, doğrudan örnek alımının zor olduğu sürülerde sentinel tavuklar kullanılabilir; bu hayvanlar problemlili sürüye yerleştirilir ve yaklaşık bir haftalık temas süresinin ardından örneklem amacıyla çıkarılır (**Gelb ve ark., 1989**).

Enfeksiyöz Bronşit Virüsü (IBV) tanısında uzun yıllar boyunca altın standart olarak kabul edilen yöntem, viral genom izolasyonu olmuştur (**Stephensen ve ark., 1999**). Ancak serolojik testler ve viral genom izolasyonu gibi geleneksel tanı yöntemleri, düşük duyarlılıkları ve zaman alıcı olmaları nedeniyle sınırlı kalmaktadır. Buna karşılık, Ters Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR), Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) ve genom dizileme gibi moleküler teknikler; yüksek duyarlılık, hızlı sonuç alma ve yüksek doğruluk sağlamaları sayesinde büyük ölçüde geleneksel yöntemlerin yerini almıştır. Bu moleküler araçlar yalnızca güvenilir tanı imkânı sunmakla kalmamakta, aynı zamanda yeni viral suşların kısa sürede genotiplendirilmesine de olanak sağlamaktadır (**Adzhar ve ark., 1997; Al Saedi ve ark., 2021**).

Bununla birlikte, farklı sınıflandırma yöntemleri arasındaki ilişki hâlen karmaşık olup tam anlamıyla standardize edilememiştir. Özellikle S1 proteini içerisindeki amino asit değişiklikleri, serotip farklılıklarının belirlenmesinde kritik rol oynamaktadır. Mutasyonun bulunduğu bölge ve bu değişikliğin çapraz bağışıklık üzerindeki etkisi, yeni serotiplerin ortaya çıkmasında belirleyici faktörlerdir (Cavanagh ve ark., 1997; Abdel-Moneim ve ark., 2006).

1.3.2. IBV Genomunun Keşfi

Ters transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) yöntemi, virüsün enfeksiyöz özelliğinden bağımsız olarak viral genomun varlığını tespit etmek için kullanılabilir. Bu yöntem, enfekte kuşlardan elde edilen örneklerle doğrudan uygulanabilir. Örneklerden elde edilen viral RNA, genomun belirli bölgelerine özgü primer çiftleri kullanılarak RT-PCR ile çoğaltılabilir. Primerler, farklı IBV suşlarına özgü olan S1 geninin hiperdeğişken bölgelerinden ya da genomun korunan bölgelerinden tasarlanabilir. Genellikle çoğaltılan en korunaklı kısım, spike geninin S1 bölgesi olmaktadır. İleri primer, 5' untranslated region (UTR)'nin korunaklı kısmından, geri primer ise spike geninin S2 kısmındaki korunaklı bölgeden tasarlanmaktadır (Raj ve Jones, 1997). Bu primerler yaklaşık 1.5 kb'lık bir fragman çoğaltmaktadır (Rasschaert ve Laude, 1987; Rocha ve ark., 1991).

Geçmişte kullanılan dehemagglütinasyon inhibisyonu (IHA) ve seronötralizasyon (SN) yöntemleriyle yapılan serotiplendirme, büyük ölçüde RT-PCR ve genotiplendirme yöntemleri ile yer değiştirmiştir. Antijenik varyasyonun moleküler temeli, genellikle spike (S) proteinini kodlayan genin veya daha spesifik olarak S1 alt birimini kodlayan genin nükleotid dizilenmesiyle incelenmektedir. S1 alt birimi, nötralizan antikörlerle tanımlanmış en fazla epitopu içermesi nedeniyle kritik öneme sahiptir (Alvarado ve ark., 2003).

Moleküler tekniklerin en büyük avantajı, hızlı sonuç vermeleri ve kullanılan testlere bağlı olarak çok çeşitli genotipleri tespit edebilme kapasiteleridir. Özellikle S1 geninin tanısal açıdan önemli bir fragmanın nükleotid dizilenmesi, IBV suşlarını ayırt etmede en yararlı tekniklerden biridir ve günümüzde birçok laboratuvar da tercih edilen yöntem hâline gelmiştir. Dizileme çalışmaları ayrıca IBV suşları arasında rekombinasyon olaylarının sıkça meydana geldiğini de göstermiştir. RT-PCR ürününün (S1 geninin hiperdeğişken uç kısmı) dizilenmesi, daha önce IBV olarak tanımlanan izolatların veya yeni yabancı varyantların teşhisi için kullanılabilir (Khataby ve ark., 2020).

Dizileme yoluyla elde edilen varyant ve yabancı izolatların referans suşlarla karşılaştırılması, bunların akrabalık derecelerinin belirlenmesinde önemli avantajlar sağlamaktadır. Bu nedenle, S1 genine dayalı filogenetik analiz, IBV genotip ve serotiplerini ayırt etmede en yararlı strateji olarak kabul edilmektedir. Bu yaklaşım, serotiple güçlü bir korelasyon göstermekte ve her coğrafi bölge için uygun aşı serotiplerinin seçilmesine olanak tanımaktadır (Jackwood, 2012).

S1 genindeki yüksek değişkenlik, IBV'nin yeni serotip ve genotiplerinin ortaya çıkmasının temel nedenidir. Bu durum, özellikle insertions, deletions ve substitutions gibi yoğun mutasyonlarla ilişkilidir. Ayrıca, S1 geninde gözlenen bu değişkenlik, bazı diğer avian koronavirüslerde de hücre tropizminin belirlenmesinde rol oynamaktadır (**Alvarado ve ark., 2003**).

1.4. Konvansiyonel PCR ile Gerçek Zamanlı PCR Arasındaki Farklar – Tespit ve Tanıdaki Önemi

Konvansiyonel PCR ve gerçek zamanlı PCR (real-time PCR, qPCR) belirli nükleik asit dizilerini saptamak için kullanılan moleküler yöntemlerdir. Ancak, metodoloji, duyarlılık ve tanısal uygulamalar açısından belirgin farklılıklar göstermektedir.

Konvansiyonel PCR, DNA'yı çoğaltmakta ve sonuçlar ancak reaksiyon tamamlandıktan sonra jel elektroforezi ile görselleştirilmektedir. Bu yöntem, bir patojenin varlığını ya da yokluğunu doğrulamada güvenilir olsa da kantitatif bilgi sağlamaz. Ayrıca, sonradan gerçekleştirilen analiz basamakları nedeniyle kontaminasyon riski artar ve işlem süresi uzar (**Mackay ve ark., 2002**).

Buna karşılık, gerçek zamanlı PCR (qPCR), DNA'nın çoğaltılma sürecini fluoresan boyalar veya probalar aracılığıyla anlık olarak izleme imkânı sunar. Bu sayede, hem hızlı ve duyarlı bir şekilde tespit yapılabilir hem de viral yükün kantitatif ölçümü gerçekleştirilebilir. Bu özellik, enfeksiyon şiddetinin değerlendirilmesinde ve hastalık seyrinin izlenmesinde kritik öneme sahiptir. Ayrıca, gerçek zamanlı PCR'nin işleme süresini kısaltması ve post-PCR işlem adımlarını en aza indirmesi, kontaminasyon riskini belirgin şekilde azaltmaktadır (**Callison ve ark., 2006**).

Her iki yöntemin birlikte kullanımı, tamamlayıcı avantajlar sunmaktadır: Gerçek zamanlı PCR, erken, doğru ve kantitatif tanı için ideal iken, konvansiyonel PCR, doğrulama testlerinde ve dizileme çalışmalarına hazırlıkta faydalı olmaktadır. Bu iki yaklaşımın entegrasyonu, tanısal güvenilirliği artırmakta ve IBV gibi viral enfeksiyonların daha kapsamlı anlaşılmasına katkıda bulunmaktadır (**Heid ve ark., 1996**).

1.5. Moleküler Tanıda Spektrofotometrelerin Kullanımı

Spektrofotometreler, ışık enerjisini ya da ışın yoğunluğunu ölçmek amacıyla kullanılan cihazlardır ve geleneksel olarak kuvars küvetler ile çalıştırılmıştır. Teknolojideki ilerlemeler sayesinde artık kapiller tip tüpler veya mikropalakalar kullanılarak da ölçüm yapılabilmektedir.

Günümüzde kullanılan mikro-hacimli spektrofotometreler (aynı zamanda küçük ya da düşük hacimli spektrofotometreler ya da nano-spektrofotometreler olarak da adlandırılır), 0.5 µL ile 2 µL arasındaki örnek hacimlerini ölçebilmektedir. Bazı gelişmiş modeller ise daha da düşük hacimlerde ölçüm yapma kapasitesine sahiptir.

Bu cihazlar, özellikle nükleik asitler ve proteinler gibi değerli biyolojik örneklerde, çok küçük miktarlarda materyal kullanarak hızlı ve doğru ölçümler yapılmasına olanak tanımaktadır (**Sambrook ve Russel, 2001**).

1.6. Adana İli/Türkiye'de AvCoV'lerin yaygınlığının incelenmesinin önemi

1.6.1. Türkiye'de IBV'nin Epidemiyolojisi ve Genetik Dizilenmesi

Avian Diseases dergisinde yayımlanan bir çalışmada, Türkiye'nin farklı bölgelerindeki 49 broyler ve 14 yumurtacı sürüden elde edilen örneklerde, Enfeksiyöz Bronşit Virüsü'nün (IBV) S1 gen dizileri analiz edilerek genetik kökeni ve çeşitliliği araştırılmıştır. Araştırma sonuçlarına göre

- Broyler sürülerinde saptanan virüsler, Ma5, H120 ve M41 gibi aşı suşlarına benzerlik göstermiştir.
- Bazı virüslerin ise İsrail kökenli varyant-2 suşlarıyla yakın genetik ilişkili olduğu belirlenmiştir.
- Yumurtacı sürülerdeki virüsler, broyler sürülerinden elde edilenlerden genetik olarak ayrılmış ve bu durum farklı bulaşma dinamiklerine işaret etmiştir.

Bu çalışma, IBV'nin genetik çeşitliliğinin anlaşılmasında dizileme çalışmalarının önemini vurgulamakta ve hastalık kontrol stratejilerinin geliştirilmesine yönelik değerli bilgiler sunmaktadır (Yılmaz ve ark., 2016).

1.7. IBV'de S1 Geninin Önemi

PMC'de yayımlanan araştırmalar, IBV'nin S1 geninin yüksek düzeyde değişkenlik gösterdiğini ve virüsün konak hücrelere tutunmasında ile bağışıklık yanıtından kaçışında kritik rol oynadığını vurgulamaktadır. Bu genin dizilenmesi, dolaşımdaki suşların doğru bir şekilde tanımlanmasına olanak sağlamakta ve bu durum, etkili aşılarda geliştirilmesi ve mevcut aşılarda etkinliğinin korunması açısından büyük önem taşımaktadır. Çalışmada ayrıca, İsrail varyant-2 suşunun Orta Doğu'da, özellikle Türkiye'de yaygın olduğu ve sürekli evriminin mevcut aşılama programları için ciddi zorluklar oluşturduğu bildirilmiştir (Khataby ve ark., 2020).

1.8. Kırsal Kümes Hayvancılığında Benzersiz Epidemiyolojik Özellikler

Türkiye'de yürütülen bir sörveyans çalışması, solunum yolu bulguları gösteren hem broyler hem de yumurtacı işletmelerde en yaygın virüsün IBV olduğunu ortaya koymuştur. Araştırma, bu sürülerde dolaşan belirli IBV genotiplerini de tanımlamış ve bu durumun, yerel bulaşma dinamiklerini anlamaya yönelik hedeflenmiş epidemiyolojik çalışmaların gerekliliğini vurguladığı belirtilmiştir (Ardıçlı ve ark., 2022).

1.9. Türkiye'de IBV Araştırmalarının Önemi

Avian Diseases dergisinde yayımlanan bir çalışmada, Türkiye'de hem broyler hem de yumurtacı sürülerde aşıya benzer suşlar da dahil olmak üzere genetik olarak farklı IBV suşlarının dolaşımda olduğunu göstermiştir. Bu bulgular, Türkiye kanatlı endüstrisinde hedefe yönelik kontrol

stratejilerinin geliştirilmesi, aşı etkinliğinin artırılması ve ekonomik kayıpların azaltılması için sürekli araştırmaların zorunlu olduğunu ortaya koymaktadır (Yılmaz ve ark., 2016).

1.10. Biyogüvenlik ve global literatür değerlendirmesi

Biyogüvenlik, kanatlı üretim sistemlerinde bulaşıcı hastalık etkenlerinin girişini ve yayılımını önlemeye yönelik önlemlerin uygulanması olarak tanımlanmaktadır. Bu kavram, tüm kanatlı üretim tiplerinde (ticari, yarı entansif ve serbest sistem) hastalık riskini azaltmak amacıyla benimsenen **tutum, davranış ve yönetim uygulamalarının** bütünüdür (FAO, 2008; Van Limbergen ve ark., 2017). Klasik biyogüvenlik unsurları **izolasyon, trafik kontrolü ve sanitasyon** olmak üzere üç başlık altında toplanmaktadır (Kouam ve ark., 2018). Bu önlemler, patojen girişini önleyen *dış biyogüvenlik*, sürü içi bulaşmayı azaltan *iç biyogüvenlik* ve enfekte işletmelerden hastalık yayılımını engelleyen *biyokapsama* olarak sınıflandırılmaktadır (CSHB, 2010). Uygun kümes tasarımı, çit sistemleri, dezenfeksiyon rutinleri ve personel hijyeni, patojenlerin giriş ve yayılımını en aza indirmede kritik rol oynamaktadır (Pierson, 2001; Eltholth ve ark., 2016).

Gelişmekte olan ülkelerde ev tipi (arka bahçe) ve serbest dolaşan tavukçuluk sistemleri, kanatlı üretiminin büyük bir bölümünü oluşturmaktadır. Bu sistemlerde biyogüvenlik düzeyinin düşük olması, Newcastle hastalığı (ND) ve yüksek patojeniteli kuş gribi (HPAI) gibi enfeksiyonların yayılım riskini artırmaktadır (Conan ve ark., 2012; Alders ve Spradbrow, 2001). Bu tür üretim sistemlerinde tavuklar yabani kuşlar, kemirgenler ve diğer hayvan türleriyle doğrudan temas hâlinde olup, hastalık kontrolünü güçleştirmektedir (Hamilton-West ve ark., 2012). Bilinç eksikliği, düzensiz aşılama uygulamaları ve kontrolsüz hayvan hareketleri, IBV, NDV ve HPAI gibi patojenlerin kırsal alanlarda kalıcılığına katkıda bulunmaktadır (Alhaji ve Odetokun, 2011; Maduka ve ark., 2016). Çit çekilmesi, ekipman ve yemliklerin temizliği, dış sürülerle temasın sınırlandırılması gibi basit yönetim önlemleri bulaşma riskini önemli ölçüde azaltabilmektedir (FAO, 2008; OIE, 2021).

Biyogüvenliğin küçük ölçekli üreticiler açısından sosyo-ekonomik önemi de birçok araştırmada vurgulanmıştır. Kırsal alanlarda tavuk yetiştiriciliği genellikle ek gelir kaynağı olarak yapılmakta; ancak hastalık kaynaklı kayıplar beslenme ve ekonomik açıdan ciddi sonuçlar doğurabilmektedir (Harvey ve ark., 2003; Olwande ve ark., 2010). Yeni alınan hayvanların karantinaya alınması, temiz yem ve su kaplarının kullanılması, ölü hayvanların uygun şekilde imha edilmesi gibi uygulamalar hem hayvan hem de halk sağlığı açısından riskleri azaltmaktadır (Permin ve Detmer, 2007; Butcher ve Yegani, 2008; Tekelioğlu ve Al-Saedi, 2021). FAO ve OIE, küçük ölçekli üretim sistemlerinde tutarlı biyogüvenlik uygulamalarının sürdürülmesinin, enfeksiyöz bronşit (IBV) ve diğer sınır aşan kanatlı hastalıklarının kontrolü için zorunlu olduğunu vurgulamaktadır (FAO, 2008; OIE, 2021).

Çalışmanın Amaçları

Bu çalışmanın temel amacı, Türkiye'nin Adana ilinde serbest dolaşan köy tavuklarında Enfeksiyöz Bronşit Virüsü'nün (IBV) prevalansını ve moleküler epidemiyolojisini araştırmaktır. Bu kapsamda çalışma özel olarak şu hedefleri içermektedir:

1. Adana ilinin farklı ilçelerindeki şüpheli sürülerde, trakeal ve çekal sürüntülerden elde edilen viral RNA'nın RT-PCR yöntemiyle tespiti yoluyla IBV prevalansının belirlenmesi.
2. IBV pozitif saha izolatlarının, antijenisite ve genotip sınıflandırmasının temel belirleyicisi olan S1 glikoprotein geninin kısmi bir bölgesinin dizilenmesi yoluyla genetik olarak karakterize edilmesi.
3. Yerel IBV saha izolatları ile aşı ve saha suşları dahil olmak üzere küresel referans suşlar arasındaki genetik ilişkilerin BLAST nükleotid benzerlik analizi ve filogenetik ağaç oluşturma yöntemleriyle karşılaştırılması.
4. Saha izolatları ile referans suşlar arasındaki genetik farklılıkların değerlendirilerek, olası yeni varyantların, rekombinasyon olaylarının veya aşıdan kaçan suşların tanımlanması.
5. Kırsal ve küçük ölçekli kümes hayvancılığı üretim sistemlerinde IBV'ye karşı gelecekteki surveyans çalışmaları, aşılama stratejileri ve kontrol önlemleri için temel moleküler verilerin sağlanması.

Hedefler

Belirlenen amaçlara ulaşmak için çalışma şu şekilde tasarlanmıştır:

1. Adana ilinin farklı ilçelerinde, IBV enfeksiyonu şüphesi bulunan serbest dolaşan köy tavuklarından trakeal ve çekal sürüntü örneklerinin toplanması.
2. Pozitif örneklerden elde edilen viral RNA üzerinde RT-PCR yöntemiyle IBV'nin tespit edilmesi ve S1 glikoprotein geninin kısmi bölgesinin dizilenmesi.
3. Saha izolatları ile küresel referans suşlar arasındaki nükleotid benzerliğinin değerlendirilmesi amacıyla BLAST analizlerinin yapılması.
4. Filogenetik ağaçların oluşturularak genetik ilişkilerin ve kümelenme paternlerinin belirlenmesi.
6. Bölgedeki IBV'nin genetik çeşitliliğinin ve evrimsel eğilimlerinin yorumlanması, böylece kontrol ve aşılama stratejilerinin şekillendirilmesine bilimsel katkı sağlanması.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

- **İnfeksiyöz Bronşitis (IB)**

İnfeksiyöz Bronşitis (IB), kanatlı sektöründe hem ticari hem de kırsal üretim sistemlerini etkileyen, yüksek bulaşıcılığa sahip, ekonomik olarak önemli bir viral solunum sistemi hastalığıdır. Hastalığın etkeni olan avian infectious bronchitis virus (IBV), Coronaviridae ailesine ve Gammacoronavirus cinsine aittir. Pozitif polariteli tek iplikçikli RNA genomuna sahip olan bu virüs, yüksek mutasyon oranı ve rekombinasyon yeteneği sayesinde sahada kısa sürede yeni varyantların oluşmasına elverişlidir. Bu özellik, antijenik çeşitliliğin artmasına ve aşı suşlarıyla saha suşları arasındaki uyumsuzluğun büyümesine yol açmakta, böylece hem aşı korumasının azalmasına hem de enfeksiyonun sahada sürekli olarak varlığını sürdürmesine neden olmaktadır (**Kardoğan ve ark., 2022**).

- **Türkiye’de IBV’nin Tarihçesi ve Epidemiyolojik Durumu**

Türkiye’de IBV enfeksiyonu ilk kez 1978 yılında Ankara’da rapor edilmiştir. 1980’li yıllardan itibaren hastalık ülke genelinde endemik hale gelmiş ve klasik Massachusetts aşı suşlarından genetik olarak ayrılmış çok sayıda saha varyantı bildirilmiştir. Balıkesir, Çanakkale, Bursa ve Manisa illerinde yürütülen kapsamlı bir saha çalışmasında broyler kümeslerinin %90,58’inde IBV pozitifliği saptanmış ve baskın genotipin IS/1494/06 (GI-23) olduğu belirlenmiştir (**Uludağ University, 2025**). Bu oran, Türkiye’de IBV’nin yaygınlığını ve saha varyantlarının güçlü dolaşımını açıkça göstermektedir.

İç Anadolu Bölgesi’nde yapılan serolojik çalışmalarda antikor titrelerinin 1–18.903 arasında değiştiği, varyasyon katsayılarının (%CV) ise %0–84 arasında olduğu bildirilmiştir (**Çakmak ve ark., 2021**). Bu durum, sürü içi bağışıklık heterojenliğinin yüksek olduğunu ve uygun olmayan aşılama stratejileri veya antijenik uyumsuzlukların koruma düzeylerini sınırladığını düşündürmektedir.

- **Moleküler Düzeyde Çeşitlilik ve Filogenetik Yapı**

Yılmaz ve ark. (2016), Türkiye’nin farklı bölgelerinden elde edilen broyler ve yumurtacı tavuk örneklerinde S1 gen bölgesini analiz etmiş ve broyler sürülerinde %83,6, yumurtacı sürülerde %64,2 oranında IBV RNA pozitifliği saptamıştır. Filogenetik analizler, saha izolatlarının bir kısmının klasik aşı suşları (Ma5, H120, M41) ile yakın ilişkili olduğunu, bir kısmının ise İsrail kaynaklı Variant-2 (IS/1494/06) ve Asya kökenli varyantlara benzediğini ortaya koymuştur. Bu durum, Türkiye’de aynı anda birden fazla genotipin dolaşımda olduğunu göstermektedir.

Ardıçlı ve ark. (2022) tarafından yürütülen ulusal surveyans çalışmasında, IBV’nin halen kanatlı endüstrisinde önemli bir enfeksiyon baskısı oluşturduğu ve sıklıkla diğer respiratuvar ajanlarla (ILTV, AMPV, ARV vb.) ko-enfeksiyonlar halinde görüldüğü rapor edilmiştir.

Ayrıca, yapılan karşılaştırmalı filogenetik analizler, Türkiye’de bildirilen IS/1494/06 varyantının Suriye’den izole edilen IBV suşlarıyla %99’un üzerinde nükleotid benzerliği gösterdiğini ortaya koymuştur (**BMC Vet Res, 2020**). Bu yüksek benzerlik oranı, Ortadoğu bölgesinde suşların karşılıklı geçişlerinin gerçekleştiğini düşündürmektedir.

- **Bölgesel ve Küresel Perspektif**

Dünya genelinde farklı coğrafi bölgelerde çok sayıda IBV genotipi ve soy hattı tanımlanmıştır (**Bayry ve ark., 2005; Awad ve ark., 2016; Ababneh ve ark., 2014**). Orta Doğu’da, özellikle Türkiye ve Irak’ta Massachusetts (H120, Ma5) aşı suşlarına karşı sınırlı çapraz koruma sağlayan çoklu genotiplerin eşzamanlı dolaşımında olduğu bildirilmektedir. Antijenik olarak farklı saha varyantlarının ortaya çıkması, aşı korumasını azaltmakta, enfeksiyonun kontrolünü güçleştirmekte ve sürveyans çalışmalarının önemini artırmaktadır (**Jordan, 2017**).

Kahya ve ark. (2013) ile **Sevimli ve ark. (2015)** tarafından yapılan moleküler epidemiyolojik araştırmalar, Türkiye’de QX-benzeri, 4/91 ve yerel varyantların baskın olduğunu ortaya koymuştur. Benzer şekilde, Irak’ta hem aşı kaynaklı hem de yerel saha suşlarının bulunduğu, komşu ülkelerle kısmi genetik benzerlik gösterdiği ve bunun sınır ötesi viral geçişlerle ilişkili olabileceği bildirilmiştir (**Raheem ve ark., 2018**).

- **Köy Tavukçuluğu ve Biyogüvenlik Faktörleri**

IBV’nin kalıcı dolaşımında köy tavukçuluğu sistemlerinin önemli bir rol oynadığı belirtilmektedir. Düşük biyogüvenlik önlemleri, düzensiz veya eksik aşılama uygulamaları, virüsün korunmasına ve evrimleşmesine uygun bir rezervuar oluşturmaktadır. Bu durum, yeni varyantların ortaya çıkışını kolaylaştırmakta ve enfeksiyonun kontrolünü güçleştirmektedir. Bu olgu yalnızca Türkiye ve Irak için değil, birçok Afrika ve Asya ülkesi için de geçerlidir.

- **Afrika, Asya ve Avrupa’dan Saha Bulguları**

Gana’da yapılan bir çalışmada IBV pozitifliğine rastlanmamış olsa da (**Matilda ve ark., 2018**), Ürdün ve İran’da yapılan çalışmalarda köy sürülerinde sırasıyla %58,8 ve %42,8 oranlarında pozitiflik tespit edilmiştir (**Seyfi Abad Shapouri ve ark., 2004; Roussan ve ark., 2009**).

Umman’da pozitiflik oranı %16, Batı Afrika’da ise yaklaşık %21 olarak bildirilmiştir (**Al-Shekaili ve ark., 2015; Kouakou ve ark., 2015; Emekpe ve ark., 2010**). Avrupa’da Finlandiya’da yapılan bir çalışmada ise köy tavuklarının %10’unda koronavirüs pozitifliği rapor edilmiştir (**Pohjola ve ark., 2017**). Bu veriler, özellikle biyogüvenliği düşük üretim sistemlerinde IBV’nin yaygınlığını ve persistansını desteklemektedir.

- **Aşı–Saha Suşu Uyumsuzluğu ve Kontrol Stratejileri**

IBV'nin genetik olarak oldukça değişken yapısı, mevcut aşılama stratejilerinin etkinliğini sınırlamakta ve saha suşları ile aşı suşları arasında antijenik boşluklar oluşturmaktadır. Aşı suşlarıyla tam uyumlu olmayan varyantlar nedeniyle sürülerde bağışıklık düzeyi düşebilmekte, subklinik enfeksiyonlar veya klinik vakalar ortaya çıkabilmektedir. Bu durum, epidemiyolojik izlemeyi ve aşı programlarının güncellenmesini zorunlu hale getirmektedir.

Türkiye’de yapılan moleküler çalışmalar, saha suşlarının evrimsel olarak dinamik bir yapıya sahip olduğunu, yeni soy hatlarının ortaya çıkabileceğini ve bunun da filogenetik kümelenme desenlerinde değişimlere yol açtığını göstermektedir (Yılmaz ve ark., 2016; Ardıçlı ve ark., 2022).





3.MATERYAL VE METOT

3.1. Örnekleme ve Örneklerin Toplanması

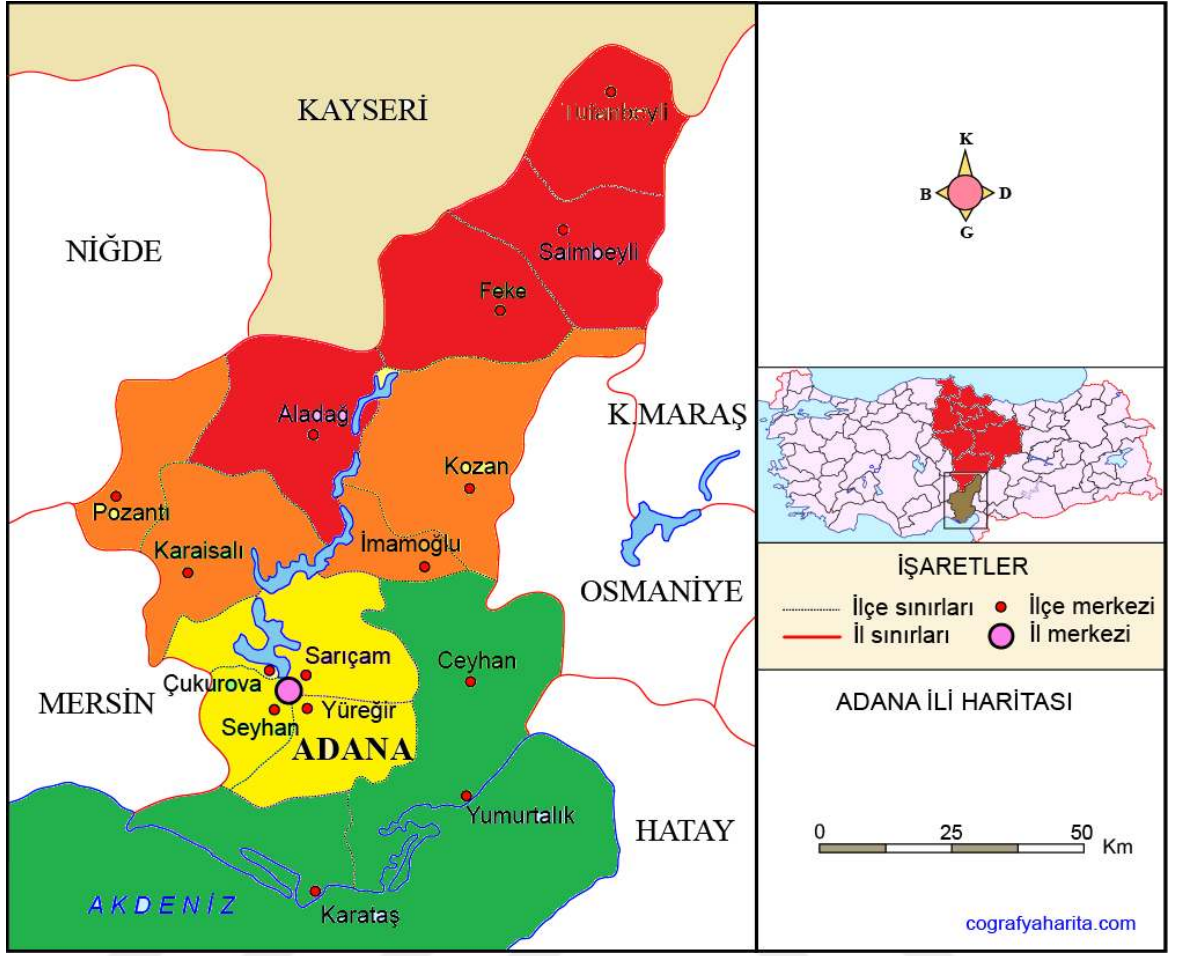
3.1.1. Örneklem Sayısının Hesaplanması

Toplam 390 örnek (114 trakeal ve 276 sekal svap) Adana, Türkiye’de IBV ile enfekte olduğu şüphelenilen farklı yaş gruplarındaki serbest gezen köy tavuklarından toplanmıştır. Örnek toplama işlemi, Adana’nın 12 ilçesini kapsayacak şekilde yapılmıştır: Çukurova, Seyhan, Sarıçam, Yüreğir, Ceyhan, Yumurtalık, Karataş, Karaisalı, İmamoğlu, Pozantı, Kozan ve Aladağ. Bu ilçelerden sırasıyla 30, 42, 36, 48, 36, 18, 42, 42, 12, 24, 24, 36 örnek alınmıştır.

Her 6 trakea ve sekum svabı birleştirilerek ayrı bir örnek havuzu oluşturulmuş ve böylece toplam 65 havuz örneği elde edilmiştir (19 trakeal ve 46 sekal), ayrıntılar Çizelge 1’de gösterilmektedir. Ölü veya hasta hayvanlar, örnekleme yapılan tüm bölgelerde sistematik olarak dahil edilerek örneklenmiştir.

Toplanan örnekler taşıma sırasında soğutuculu kutularda muhafaza edilmiş, fosfat tamponlu salin, penisilin (1000 IU/ml) ve streptomisin (10 mg/ml) içeren bir taşıma ortamına konulmuş ve kullanılıncaya kadar -20°C ’de saklanmıştır. Bu örnekler daha sonra virüs izolasyonunda kullanılmıştır.

Örnekleme, Adana ilinin farklı rakımlardaki (deniz seviyesinden 1472 m’ye kadar) 15 ilçesinde rastgele seçilen lokasyonlarda yapılmıştır. Adana ili 14.030 km² yüzölçümüne sahiptir ve coğrafi olarak Türkiye’nin Akdeniz Bölgesi’nde yer almaktadır. Yüzölçümü bakımından Adana ili, dünya üzerinde 41 ülkeden daha büyüktür. Adana ilinin coğrafi haritası Şekil 2 de sunulmuştur (Coğrafyaharita, 2024).



Şekil 3.1. Adana ilinin coğrafi haritası (Cografya harita, 2024)

3.1.2. Örneklem Büyüklüğü

Bu çalışmada istatistiksel güvenilirliği sağlamak amacıyla gerekli minimum örnek sayısı, örneklem büyüklüğü hesaplama programı (Sample Size Calculator) kullanılarak belirlenmiştir. TÜİK'in yıllık istatistik raporları ve önceki yayınlar temel alınarak Adana ili kanatlı hayvan varlığı yaklaşık 16.000.000 (16 milyon) olarak tahmin edilmiştir (**Türkiye İstatistik Kurumu, 2023**). Bu tahmine göre, %95 güven düzeyinde ve $\pm\%5$ hata payı ile gerçek değeri yansıtabilmek için en az 385 örneklem ölçümü yapılması gerektiği hesaplanmıştır.

3.1.3. Sahada Örneklem Çalışmaları

Bu amaçla Adana ilini 12 ilçesinde serbest dolaşan köy tavuklarında örneklem çalışması yapılmıştır. Örneklem, numunenin sonraki RNA ekstraksiyonu, moleküler tespit ve virüsün genetik karakterizasyonu için kalitesini korumak amacıyla aseptik koşullar altında gerçekleştirilmiştir. IBV tespiti için örnek toplanan ilçelerin bilgileri ile toplanan örneklere ait tavuk sayısı, vaka tipi, svab türü ve havuzlanmış örnekler dahil veriler Çizelge 1'de verilmiştir. Örnek toplama çalışmalarına ait görseller Şekil 3.2 A, B ve Şekil 3.3 ile 3.4'de verilmiştir.



Şekil 3.2-A. IBV enfeksiyonundan şüphelenilen kırsal serbest dolaşan bir tavuktan trakeal svab örneğinin saha koşullarında toplanması.



Şekil 3.2-B. Saha örnekleme sırasında başka bir tavuktan trakeal svab alınması; farklı bir açıdan uygulanan svablama tekniği görülmektedir.



Şekil 3.3-A: Kırsal alanda serbest dolaşan ve IBV enfeksiyonundan şüphelenilen bir tavuktan sekal svab örneğinin saha koşullarında alınması.



Şekil 3.3-B: Kırsal alanda serbest dolaşan başka bir tavuktan IBV enfeksiyonundan şüphelenilen sekal svab örneğinin saha koşullarında alınması; örnekleme işlemi farklı bir birey üzerinde gösterilmektedir.



Şekil 3.4. IBV enfeksiyonundan şüphelenilen ölü tavuklardan nekropsi ve doku örneklerinin toplanması

Örnekleme, sonraki RNA ekstraksiyonu, moleküler tespit ve virüsün genetik karakterizasyonu için trakeal ve sekal dokuların elde edilmesi amacıyla aseptik koşullar altında gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.1. IBV tespiti için kullanılan farklı ilçelerden toplanan örneklerin özeti; tavuk sayısı, vaka tipi, svab türü ve havuzlanmış örnekler dahil

Grup No.	İlçe	Örnek Sayısı	Kanatlı Durumu	Svap Tipi	Svap Sayısı	Havuzlanmış Örnek Sayısı
1	Çukurova	30	Canlı	Trakeal	6	1
				Sekal	24	4
2	Ceyhan	42	Canlı	Trakeal	12	2
				Sekal	30	5
3	Sarıçam	36	Canlı	Trakeal	12	2
				Sekal	24	4
4	Pozantı	48	Canlı, Ölü	Trakeal	18	3
				Sekal	30	5
5	Seyhan	36	Canlı, Ölü	Trakeal	6	1
				Sekal	30	5
6	Kozan	18	Canlı	Trakeal	6	1
				Sekal	12	2
7	Karataş	42	Canlı	Trakeal	12	2
				Sekal	30	5
8	Yumurtalık	42	Canlı, Ölü	Trakeal	12	2
				Sekal	30	5
9	Karaisali	12	Canlı	Trakeal	6	1
				Sekal	6	1
10	Yüreğir	24	Canlı	Trakeal	6	1
				Sekal	18	3
11	İmamoğlu	24	Canlı	Trakeal	12	2
				Sekal	12	2
12	Aladağ	36	Canlı, Ölü	Trakeal	6	1
				Sekal	30	5

3.1.4. Gerçek Zamanlı Ters Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) ile Avian Enfeksiyöz Bronşit Virüsünün (IBV) Tespiti

Viral RNA ekstraksiyonu için üretici firmanın talimatlarına uygun olarak PureLink™ Viral RNA/DNA Mini Kiti (Life Technologies Corporation, Carlsbad, CA, ABD) kullanıldı ve trakeal ve kloakal svablardan RNA ekstraksiyonu yapıldı. Saflaştırılmış RNA, 50 µL RNaz içermeyen suda elüe edilerek -80°C’de ileri analizlere kadar saklandı. RNA konsantrasyonu ve saflığı NanoDrop spektrofotometre (Thermo Scientific, ABD) kullanılarak belirlendi.

Tamamlayıcı DNA (cDNA), OneScript™ Plus cDNA Sentez Kiti (abm, Kanada) kullanılarak sentezlendi. Ters transkripsiyon reaksiyonu, şu bileşenleri içeren 20 µL’lik bir reaksiyon hacminde gerçekleştirildi: 4 µL 5× RT Reaction Mix, 1 µL OneScript Plus Reverse Transcriptase, 1 µL oligo(dT) primer, 1 µL dNTP mix, 5 µL RNA şablonu, 8 µL nükleaz içermeyen su.

Ters transkripsiyon için termal koşullar şunlardı:

- * 25°C’de 5 dakika (primer bağlanması)
- * 50°C’de 30 dakika (cDNA sentezi)
- * 85°C’de 5 dakika (enzim inaktivasyonu)

Sentezlenen cDNA, 25 µL’lik toplam reaksiyon hacminde 5× Hot FIREPol® Probe qPCR Mix Plus (ROX) (Solis BioDyne, Estonya) kullanılarak gerçek zamanlı PCR amplifikasyonunda kullanıldı. Reaksiyon karışımı şu bileşenlerden oluşuyordu: 5 µL 5× Hot FIREPol® Probe qPCR Mix Plus (ROX), 0.5 µL ileri primer (10 µM), 0.5 µL geri primer (10 µM), 0.5 µL TaqMan probu (10 µM), 2 µL cDNA şablonu, 16.5 µL nükleaz içermeyen su. Bu çalışmada kullanılan primerler ve prob, **Callison ve ark. (2006)** tarafından daha önce tanımlandığı üzere IBV’nin S1 genine dayanmaktadır.

Çizelge 3.2. Bu çalışmada kullanılan Avian Enfeksiyöz Bronşit Virüsünün (IBV) kısmi S1 genini hedefleyen primer ve prob dizileri

Primer	Primer sequence (5’→3’)
Forward	5’-GCTTTTGAGCCTAGCGTT-3’
Reverse	5’-GCCATGTTGTCACTGTCTATTG-3’
Probe	5’-FAM-CACCACCAGAACCTGTCACCTC-BHQ1-3’

Seçilen bu primerler ve prob, IBV’nin S1 gen bölgesine özgüllükleri sayesinde saha izolatlarının hassas tespiti ve moleküler karakterizasyonunu mümkün kılmak amacıyla kullanılmıştır. Gerçek zamanlı amplifikasyon, aşağıdaki termal döngü koşulları ile StepOnePlus™ Real-Time PCR Sistemi (Applied Biosystems, ABD) kullanılarak gerçekleştirildi:

- Aşama 1: 95°C’de 12 dakika (ilk denatürasyon – 1 döngü)
- Aşama 2: 95°C’de 17 saniye ve 60°C’de 1 dakika (×40 döngü)
- Aşama 3: 60°C’de 30 saniye (son uzatma – 1 döngü)

Aşama 4: 4°C’de bekletme (∞)

Floresan sinyalleri her döngüde 60°C bağlanma/uzatma adımıyla toplandı. Veriler StepOne™ Software v2.3 kullanılarak analiz edildi ve amplifikasyon eğrileri, üstel floresan sinyallerin varlığına dayanarak pozitif IBV RNA örneklerini belirlemek için kullanıldı. Kesin Ct değerleri analizin odak noktası olmamakla birlikte, amplifikasyon profilleri viral RNA’nın varlığını doğrulamıştır.

Kalan sentezlenmiş cDNA, konvansiyonel PCR ve sekanslama da dahil olmak üzere ileri moleküler analizler için -20°C’de saklandı.

3.1.5. Viral RNA’nın Kantifikasyonu ve Saflık Değerlendirmesi

Ekstrakte edilen viral RNA’nın konsantrasyonu ve saflığı, Thermo Scientific™ NanoDrop™ One Mikro Hacimli UV-Vis Spektrofotometre (Thermo Fisher Scientific, ABD) kullanılarak ölçüldü. Cihazın kalibrasyonu için ilk olarak 1 µL nükleazdan arındırılmış su ile blank ölçümü yapıldı. Daha sonra her bir RNA örneğinden 1 µL doğrudan ped üzerine yerleştirilerek ölçüm gerçekleştirildi. NanoDrop cihazı, RNA konsantrasyonunu ng/µL cinsinden vermekle birlikte, nükleik asit saflığının değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılan 260/280 ve 260/230 nm absorbans oranlarını da sağladı. A260/A280 oranının ~2.0 olması, elde edilen RNA’nın yüksek saflıkta olduğunu ve ters transkripsiyon ile PCR gibi ileri moleküler analizler için uygun olduğunu göstermektedir. Ayrıca cihazın Acclaro™ kontaminant tanımlama teknolojisi, olası safsızlıkların tespiti ve ölçümlerin doğruluğunun güvence altına alınması amacıyla kullanıldı (Thermo Fisher Scientific, 2017; 2020).

3.1.6. Pozitif Kontrol

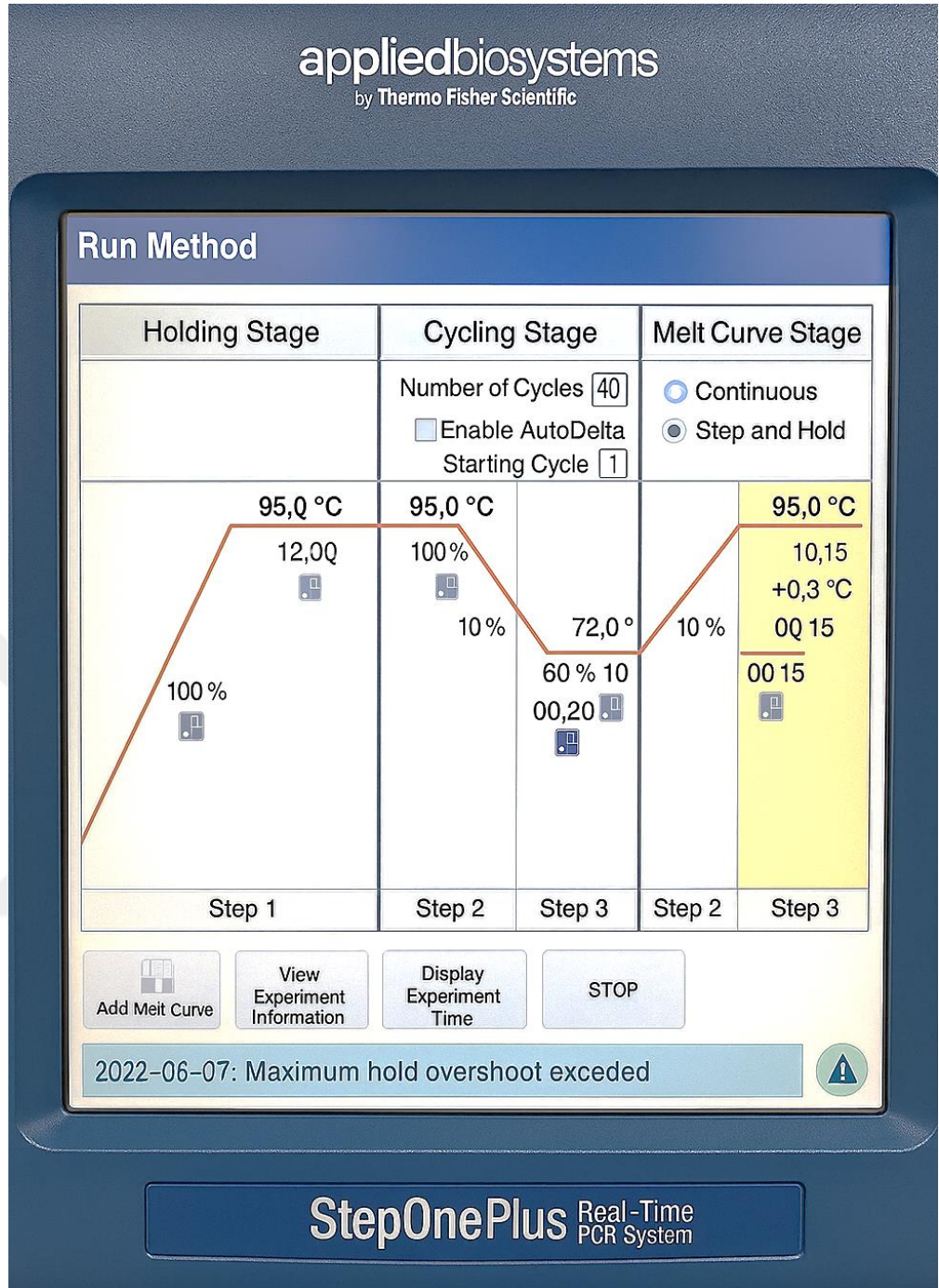
Çalışmada gerek RT-PCR gerekse konvansiyonel PCR çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan IBV izolatlarına ait genomlar İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı Prof. Dr. Nuri Turan’dan tarafından temin edilmiştir.

3.1.7. Analiz ve Kontroller

Pozitif kontrol olarak IBV RNA’sı içeren bir standart kullanılmıştır. Negatif kontrol olarak ise sadece nükleazsız su eklenmiş reaksiyon tüpleri hazırlanmıştır. Amplifikasyon eğrisi ve melting curve analizi kullanılarak spesifik amplifikasyon doğrulanmıştır.

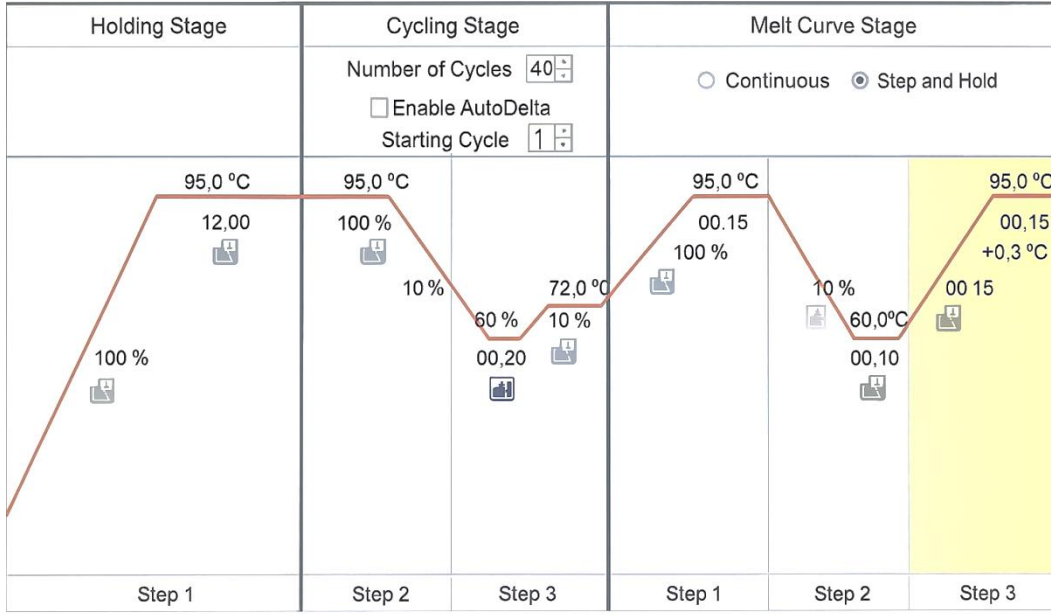
3.1.8. Optimizasyon Çalışmaları

Optimizasyon için yapılan ön çalışmalarda RT-PCR ve konvansiyonel PCR analizlerinde gerek Pozitif kontrol ve gerekse Negatif kontrol denemeleri başarılı sonuçlar vermiştir.



Şekil 3.5-A. StepOnePlus™ Gerçek Zamanlı PCR Sistemi (Applied Biosystems, ABD) üzerinde görüntülenen gerçek zamanlı RT-PCR ısı döngü programı.

Bu şekil, cihaz arayüzünde programlanmış olan ve IBV tespitinde kullanılan ısı profili göstermektedir. Program; ilk denatürasyon, amplifikasyon döngüleri ve son uzatma basamaklarını içermektedir.



Şekil 3.5-B. StepOnePlus™ Gerçek Zamanlı PCR Sistemi'nin (Applied Biosystems, ABD) bilgisayar arayüzünde görüntülenen Greek zamanlı RT-PCR ısıl döngü programı

Şekil, IBV tespiti için kullanılan ayrıntılı amplifikasyon protokolünü göstermektedir. Program, bekletme (holding), döngü (cycling) ve erime eğrisi (melt curve) aşamalarını içermekte olup, en uygun test performansı için belirlenmiş sıcaklıklar, süreler ve döngü sayılarıyla yapılandırılmıştır.



Şekil 3.6-A. IBV tespiti sırasında laboratuvarında kullanılan StepOnePlus™ Gerçek Zamanlı PCR Sistemi'nin (Applied Biosystems, ABD) çalışması.

Şekil, gerçek zamanlı RT-PCR analizinin başlatılması ve izlenmesine yönelik laboratuvar iş akışını göstermektedir. Bu kapsamda, ısıl döngü programının kurulumu ve amplifikasyon parametrelerinin kontrolü de dâhil edilmiştir.



Şekil 3.6-B. StepOnePlus™ Gerçek Zamanlı PCR Sistemi'nde (Applied Biosystems, ABD) gerçek zamanlı RT-PCR amplifikasyon sonuçlarının izlenmesi.

Şekil, veri toplama aşamasını göstermektedir. Bu aşamada operatör, bağlı bilgisayar üzerinden amplifikasyon eğrilerini ve döngü eşiği (Ct) değerlerini analiz ederek IBV tespit sonuçlarını değerlendirmektedir.



Şekil 3.7. IBV çalışması sırasında laboratuvardaki araştırma ekibi üyeleri

Şekil, çalışmanın başarıyla tamamlanması için gerekli olan örneklerin işlenmesi, RNA ekstraksiyonu ve moleküler analizler sürecine katılan laboratuvar ekibini ve işbirliğine dayalı çabayı göstermektedir.

3.2. Geleneksel PCR ve Filogenetik Dizileme

DNA'nın Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile Amplifikasyonu

DNA çoğaltımı, üretici firmanın talimatlarına uygun olarak GoScript™ SV Total Isolation System kiti (Promega) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Primerler

Bu çalışmada, **Ghorbiani ve ark. (2020)** tarafından tanımlanan ve trakea, akciğer ile sekal tonsillerde IBV'nin tespiti amacıyla kullanılan primerler uygulanmıştır. Ancak, araştırmamızda trakeal ve kloakal svap örnekleri toplanmış, aynı primer seti kullanılarak RNA ekstraksiyonu ve PCR analizleri gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.3. Enfeksiyöz Bronşit Virüsü'nün (IBV) S1 genini hedefleyen konvansiyonel PCR tespitinde kullanılan primer dizileri

Gene	Primer Sequences (5' - 3')	Product size
S1	XCE1:5'CACTGGTAATTTTTCAGATGG3'	464pb
SI	XCE2: 5'-CTCTATAAACACCCTTACA-3')	464pb

RT işleminden elde edilen cDNA'nın 5 µL'lik bir kısmı, aşağıdaki bileşenleri içeren 15 µL'lik karışım ile birleştirilmiştir:

PCR Nükleotid Karışımı: 1 µL

Nükleaz içermeyen su: 6 µL

GoScript™ 5X Reaksiyon Tamponu: 4 µL

MgCl₂: 2 µL

Rekombinant RNasin® (Ribonükleaz İnhibitörü): 1 µL

GoScript™ Reverse Transcriptase: 1 µL

Karışım yaklaşık 15 saniye boyunca Vortex cihazında homojenize edilmiş, ardından 8.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Bu işlemin ardından, tüpler önceden programlanmış PCR döngü koşullarına sahip termal döngü cihazına (thermocycler) yerleştirilerek PCR reaksiyonu başlatılmıştır.

cDNA sentezi

Bağlanma (Anneal): 25 °C’de, 5 dakika.

Birinci zincir sentezi (First-strand synthesis reaction): 42 °C’de, 1 saate kadar.

Enzim inaktivasyonu (Inactivation): 70 °C’de, 1 dakika.

PCR Reaksiyonu

IBV S1 geninin amplifikasyonu için 25 µL’lik reaksiyon karışımı hazırlandı. Ghorbani ve ark. (2020) tarafından tanımlanan XCE1 (5'-CACTGGTAATTTTTCAGATGG-3') ve XCE2 (5'-CTCTATAAACACCCTTACA-3') olmak üzere IBV S1-spesifik primerleri kullanıldı.

- Nihai reaksiyon bileşimi şu şekildeydi:

12.5 µL 2× PCR Master Mix (Promega, ABD), 2.5 µL ileri primer XCE1 (10 µM), 2.5 µL geri primer XCE2 (10 µM), 5 µL cDNA şablonu, 3.5 µL nükleazsız su.

- Termal döngü koşulları:

94 °C’de 5 dakika başlangıç denatürasyonu, 35 döngü: 94 °C’de 30 saniye denatürasyon, 55 °C’de 30 saniye bağlanma (annealing), 72 °C’de 35 saniye uzama (extension), 72 °C’de 4 dakikason uzatma.

PCR ürünleri %2 agaroz jel üzerinde 100 V’de elektroforez edilerek ayrıştırıldı ve etidyum bromür boyamasının ardından UV ışığı altında görüntülendi. Amplifiye edilen PCR ürünleri dizileme için Macrogen Inc. (Seul, Güney Kore) laboratuvarına gönderildi.

Agaroz Jel Elektroforezi

Bu adımlar, **Podzorski ve ark. (2006)** tarafından tanımlanan yöntemle göre gerçekleştirilmiştir. İzole edilen DNA’dan 5 µL’lik bir kısım, 2 µL yükleme boyası ve 4 µL nükleazsız su ile karıştırıldıktan sonra belirlenen kuyucuklara yüklendi. Numuneler, 70 V’de 45–60 dakika boyunca elektrik alanına maruz bırakıldı. Ardından, PCR ürünleri jelden geçirilerek 100 V UV ışığı altında analiz edilmiştir.

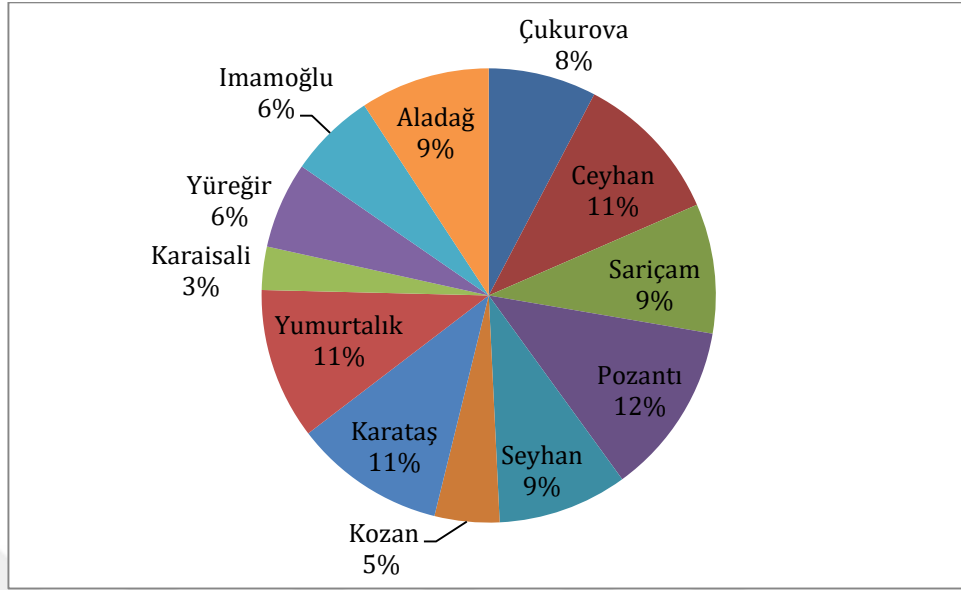
Sekans Analizi

Bu çalışmada saha suşlarının S1 geninin hiperdeğişken bölgesi (HVR) amplifiye edilmiş ve daha sonra Illumina platformu kullanılarak dizilenmek üzere XCE1 (5'-CACTGGTAATTTTTCAGATGG-3') ve XCE2 (5'-CTCTATAAACACCCTTACA-3') primerleri ile birlikte Güney Kore’deki Macrogen firmasına (Seul, Güney Kore)’e gönderilmiştir. Elde edilen diziler, GenBank (NCBI)’de daha önce tanımlanmış olan IBV referans suşları ile karşılaştırılmıştır. Kısmi S1 genine ait çoklu dizi hizalaması (MSA), ClustalW, MUSCLE ve MAFFT gibi hizalama araçları kullanılarak yapılmış ve hizalamalar Jalview yazılımı ile görselleştirilmiştir. Jalview,

nükleotid korunumu renk kodlamasıyla göstermekte ve konsensüs korunum çubuğunu sunmaktadır. Genetik akrabalık derecesini daha ayrıntılı değerlendirmek amacıyla, hizalanmış dizilerden nükleotid çiftleri arasındaki benzerlik (pairwise identity) değerleri Sequence Demarcation Tool (SDT) v1.2 yazılımı ile hesaplanmış, böylece yüzde benzerlik ısı haritası (heatmap) ve hiyerarşik kümeleme dendrogramı elde edilmiştir. Son olarak, nükleotid dizilerinin filogenetik ağacı MEGA7 yazılımı kullanılarak oluşturulmuştur (Kumar ve ark.,2016).

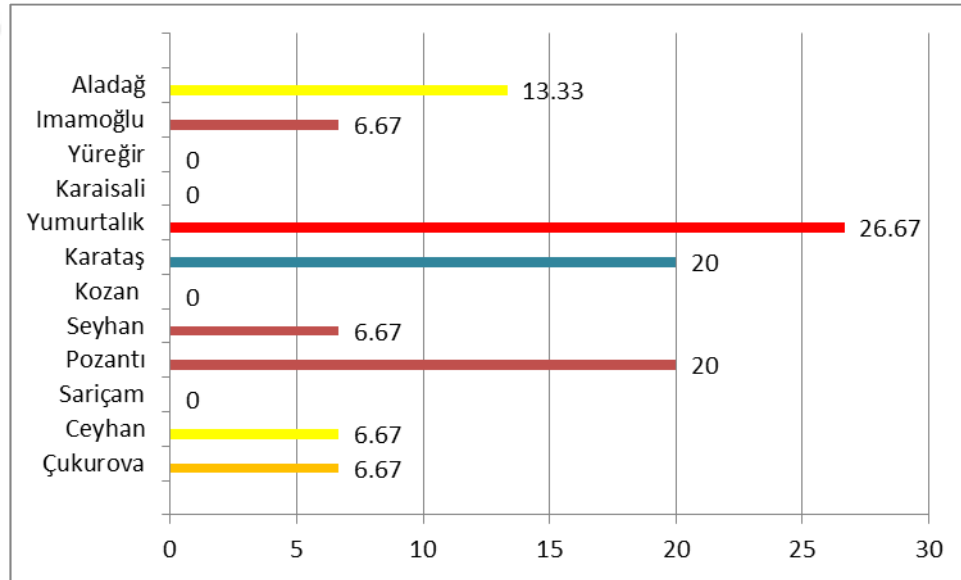


4. BULGULAR VE TARTIŞMALAR

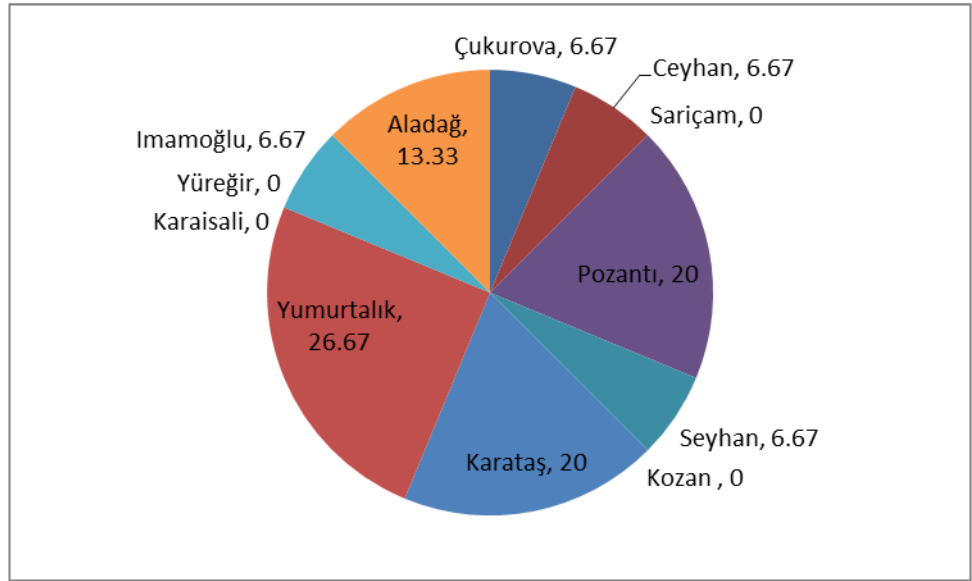


Şekil 4.1. Türkiye'nin Adana İli'ndeki farklı ilçelerde havuzlanmış örneklerin dağılımı

Pasta grafik, Adana ilinin farklı ilçelerinden IBV tespiti amacıyla toplanan havuzlanmış örneklerin yüzdesel dağılımını göstermektedir.



Şekil 4.2-A. Türkiye'nin Adana İli'ndeki ilçelerde IBV-pozitif havuzlanmış örneklerin prevalans oranı



Şekil 4.2-B. Türkiye'nin Adana İli ilçelerinde IBV-pozitif havuzlanmış örneklerin prevalans oranı

Bu şekiller (4.2 -A ; 4.2-B) , Adana iline bağlı 12 ilçeden elde edilen Enfeksiyöz Bronşit Virüsü (IBV) pozitiflik oranlarının karşılaştırmalı dağılımını göstermektedir.

Dairesel grafik, her ilçedeki pozitiflik oranlarının oransal payını görselleştirirken, yatay çubuk grafik aynı verilerin nicel karşılaştırmasını sunmaktadır.

Grafiklere göre, Pozantı (%12), Ceyhan (%11), Yumurtalık (%11) ve Karataş (%11) ilçeleri en yüksek pozitiflik oranlarına sahip bölgeler olarak öne çıkmaktadır.

Buna karşın Karaisali (%3) ve Kozan (%5) bölgelerinde pozitiflik oranlarının düşük olduğu, Yüreğir (%6), İmamoğlu (%6), Çukurova (%8) ve Aladağ (%9) ilçelerinde ise orta düzeyde pozitiflik saptandığı görülmektedir.

Bu dağılım, IBV enfeksiyonunun Adana genelinde heterojen bir şekilde yayıldığını ve coğrafi, ekolojik veya yönetimsel faktörlerin pozitiflik oranları üzerinde etkili olabileceğini göstermektedir.

Çizelge 4.1. Adana İli'nin farklı ilçelerinde trakeal ve sekal svaplara dayalı olarak tespit edilen IBV-pozitif havuzlanmış örneklerin sayısı ve yüzdesi.

Grup No	İlçe	Örnek Sayısı	Kanatlı Durumu	Svap Tipi	Svap Sayısı	Havuzlanmış Örnek Sayısı	IBV + Havuz	Pozitiflik (%)
1	Çukurova	30	Canlı	Trakeal	6	1	✗	0
				Sekal	24	4	✓	25.0 %
2	Ceyhan	42	Canlı	Trakeal	12	2	✗	0
				Sekal	30	5	✓	20.0 %
3	Sarıçam	36	Canlı	Trakeal	12	2	✗	0
				Sekal	24	4	✗	0
4	Pozantı	48	Canlı, Ölü	Trakeal	18	3	✓	33.3 %
				Sekal	30	5	✓✓	40.0 %
5	Seyhan	36	Canlı, Ölü	Trakeal	6	1	✗	0
				Sekal	30	5	✓	20.0 %
6	Kozan	18	Canlı	Trakeal	6	1	✗	0
				Sekal	12	2	✗	0
7	Karataş	42	Canlı	Trakeal	12	2	✓	50.0 %
				Sekal	30	5	✓✓	40.0 %
8	Yumurtalık	42	Canlı, Ölü	Trakeal	12	2	✓	50.0 %
				Sekal	30	5	✓✓✓	60.0 %
9	Karaisalı	12	Canlı	Trakeal	6	1	✗	0
				Sekal	6	1	✗	0
10	Yüreğir	24	Canlı	Trakeal	6	1	✗	0
				Sekal	18	3	✗	0
11	İmamoğlu	24	Canlı	Trakeal	12	2	✗	0
				Sekal	12	2	✗	0
12	Aladağ	36	Canlı, Ölü	Trakeal	6	1	✓	100 %
				Sekal	30	5	✓	20.0 %

Bu tablo, Adana ilinin farklı ilçelerinden elde edilen trakeal ve sekal sürüntü örneklerinin gerçek zamanlı RT-PCR sonuçlarına göre Enfeksiyöz Bronşit Virüsü (IBV) pozitiflik durumunu göstermektedir.

Her ilçe iki alt satırla temsil edilmiştir: üst satır trakeal, alt satır ise sekal örnekleri göstermektedir.

Tabloda pozitif sonuçlar **yeşil renkle (✓)**, negatif sonuçlar ise **kırmızı renkle (✗)** belirtilmiştir.

Ct değeri ≤ 35 olan havuzlar pozitif olarak değerlendirilmiştir. Negatif örneklerde amplifikasyon gözlenmemiştir.

Sonuçlara göre, IBV pozitiflik oranları ilçeler arasında farklılık göstermiş olup, en yüksek oranlar **Yumurtalık (%60)** ve **Karataş (%50)** ilçelerinde saptanmıştır.

Çizelge 4.2 Adana ilinin farklı ilçelerinden toplanan IBV-pozitif havuzlanmış trakeal ve çekal örneklerin sayısı ve yüzdesi

No.	İlçe	Toplam T./C. Sür. Havuzu	Pozitif Örnek Sayısı	Pozitif Örneklerin Yüzdesi (%)	Genel Pozitiflik Durumu
1	Çukurova	5	1	25.0%	✓Pozitif
2	Ceyhan	7	1	20.0%	✓Pozitif
3	Sarıçam	6	0	0%	✗Negatif
4	Pozantı	8	3	37.5%	✓Pozitif
5	Seyhan	6	1	16.7%	✓Pozitif
6	Kozan	3	0	0%	✗Negatif
7	Karataş	7	3	42.9%	✓Pozitif
8	Yumurtalık	7	4	57.1%	✓Pozitif
9	Karaisalı	2	0	0%	✗Negatif
10	Yüreğir	4	0	0%	✗Negatif
11	İmamoğlu	4	0	0%	✗Negatif
12	Aladağ	6	2	33.3%	✓Pozitif
Ortalama	Adana	65	15	19.4%	

Bu tablo, Adana ilinin farklı ilçelerinden toplanan trakeal ve sekal sürüntü örneklerinin RT-PCR sonuçlarına göre IBV pozitiflik durumunu göstermektedir. En az bir pozitif örnek tespit edilen ilçeler '✓ Pozitif', hiç pozitif örnek bulunmayan ilçeler ise '✗ Negatif' olarak değerlendirilmiştir. Genel olarak, Adana ilinde test edilen 65 havuzdan 15'i pozitif bulunmuş ve ortalama pozitiflik oranı %19.4 olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.3. Adana İli'nin her ilçesinde IBV-pozitif havuzlanmış örneklerin prevalans oranı

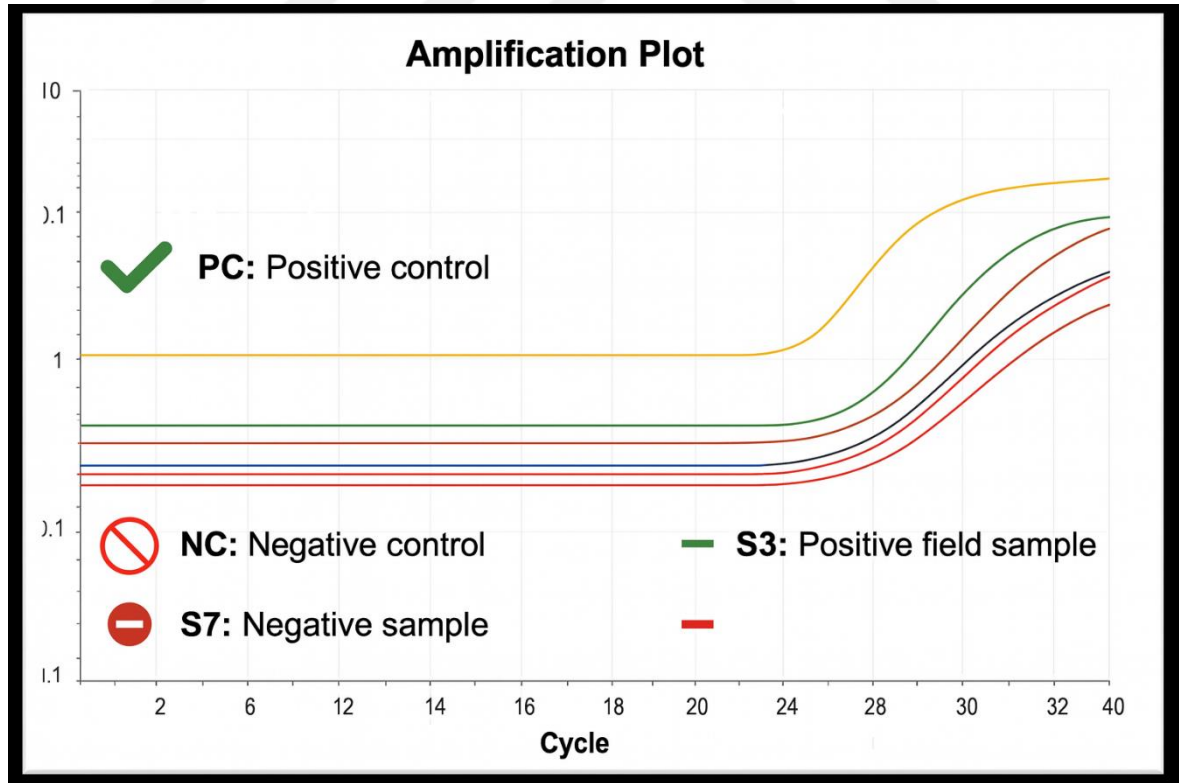
İlçe	Pozitif havuzlanmış örnek sayısı	Adana'daki prevalans oranı (%)
Çukurova	1	6.7
Ceyhan	1	6.7
Sarıçam	0	0
Pozantı	3	20.0
Seyhan	1	6.7
Kozan	0	0
Karataş	3	20.0
Yumurtalık	4	26.7
Karaisalı	0	0
Yüreğir	0	0
İmamoğlu	0	0
Aladağ	2	13.3

Bu Çizelge, farklı ilçelerdeki IBV-pozitif havuzlanmış örneklerin sayısını ve bunlara karşılık gelen prevalans oranlarını göstermekte olup, en yüksek oranların Yumurtalık, Karataş ve Pozantı ilçelerinde olduğunu vurgulamaktadır.

Çizelge 4.4. IBV-pozitif örneklerin nükleik asit konsantrasyonu ile saflık oranlarını (A260/280 ve A260/230) gösteren Nanodrop spektrofotometri sonuçları

Örnek	Nükleik Asit (ng/μl)	A260/280 nm	A260/A230 nm
1	81.6	2.15	2.11
2	91.6	2.05	1.97
3	165.4	2.05	2.39
4	83.7	2.12	2.13
5	80.6	2.15	2.4
6	43.3	2.16	2.41
7	45.3	2.13	2.22
8	82.7	2.13	2.0
9	193.9	2.0	2.1
10	329.0	2.03	2.1
11	255.3	2.2	2.1
12	115.1	2.1	2.1
13	227.2	2.0	2.64
14	140.5	2.08	2.18
15	98.3	2.12	2.05

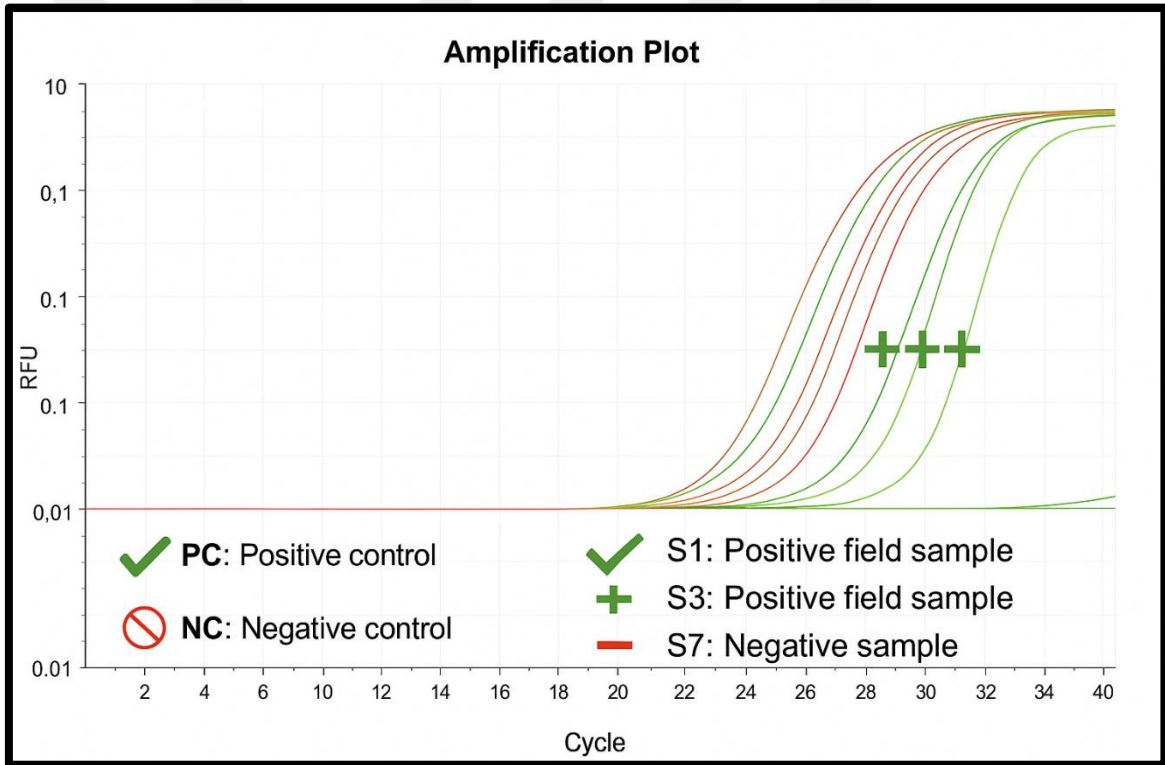
Bu Çizelge, Nanodrop spektrofotometresi kullanılarak elde edilen IBV-pozitif örneklerin RNA verimini ve saflık ölçümlerini sunmaktadır; saflık oranları, ileri moleküler analizler için kabul edilebilir kaliteyi göstermektedir.



Şekil 4.3-A: Pozitif IBV örneklerini gösteren gerçek zamanlı RT-PCR analizine ait amplifikasyon eğrisi.

- Bu şekil, gerçek zamanlı RT-PCR analizi sonucunda elde edilen amplifikasyon eğrilerini göstermektedir. **Amplifikasyon eğrilerinin erken döngü numaralarında (düşük Ct değerlerinde) eşik çizgisini geçmesi, test edilen örneklerde Enfeksiyöz Bronşit Virüsü (IBV) RNA'sının varlığını göstermektedir.**

Şekilde sarı renkle gösterilen **pozitif kontrol (PC)**, düşük Ct değerinde (yaklaşık 22–24. döngüde) güçlü amplifikasyon sergileyerek reaksiyonun düzgün çalıştığını doğrulamaktadır. **S3 kodlu saha örneği**, pozitif kontrolle benzer şekilde erken döngülerde amplifikasyon göstermiştir ve **IBV pozitif** olarak değerlendirilmiştir. Buna karşılık, **negatif kontrol (NC)** ve **S7 kodlu örnek**, amplifikasyon eğrisi oluşturamamış ve **negatif** sonuç vermiştir. Bu sonuçlar, kullanılan RT-PCR sisteminin güvenilirliğini ve test edilen numunelerde IBV varlığının doğru şekilde tespit edildiğini ortaya koymaktadır.

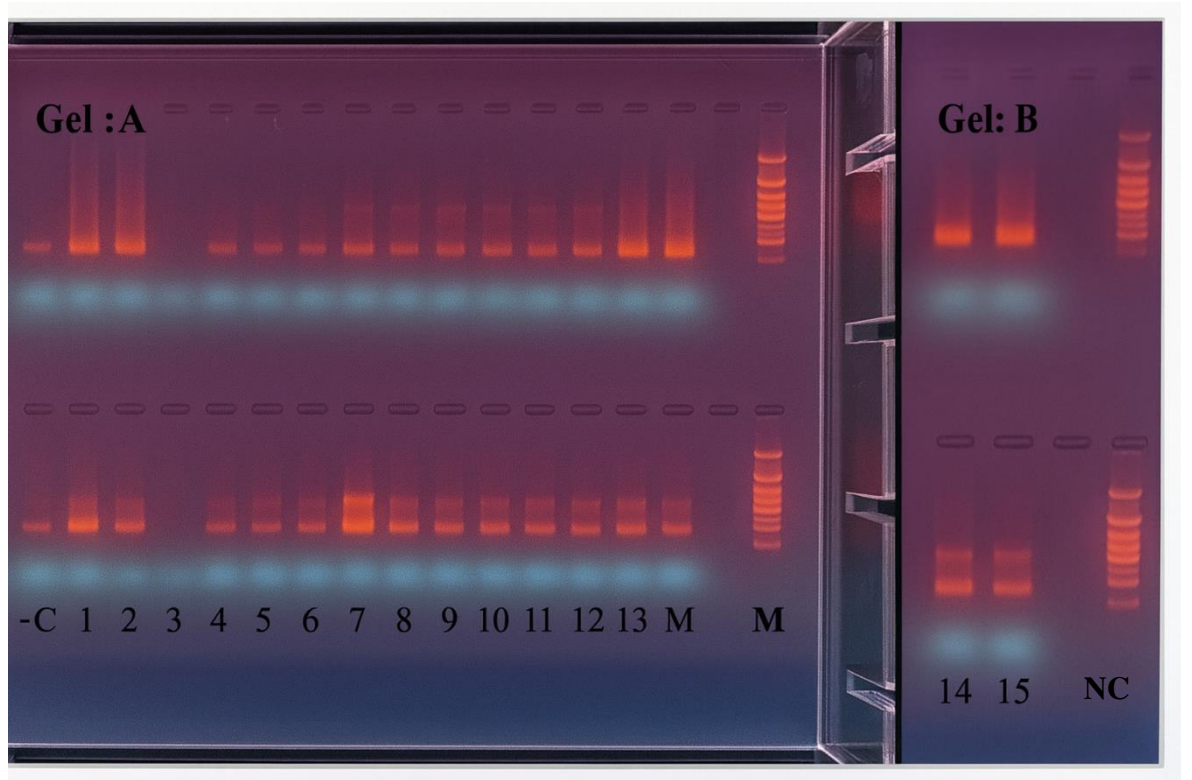


Şekil 4.3-B: Ek IBV pozitif örneklerine ait gerçek zamanlı RT-PCR analizinin amplifikasyon eğrisi

- Bu şekil, Enfeksiyöz Bronşit Virüsü (IBV) S1 genine özgü primer ve prob kullanılarak gerçekleştirilen gerçek zamanlı RT-PCR analizinden elde edilen amplifikasyon eğrilerini göstermektedir. **Amplifikasyon eğrilerinin erken döngü numaralarında (düşük Ct değerlerinde) eşik çizgisini aşması, test edilen bu örneklerde IBV RNA'sının varlığını doğrulamaktadır.**

Şekilde yeşil renkle gösterilen **S1** ve **S3** kodlu saha örnekleri ile **pozitif kontrol (PC)** erken döngülerde belirgin amplifikasyon göstermiştir ve **pozitif** olarak değerlendirilmiştir. Buna karşılık, **negatif kontrol (NC)** ve **S7** kodlu örneklerde amplifikasyon eğrisi oluşmamış, bu örnekler **negatif** olarak belirlenmiştir.

Amplifikasyon eğrilerinin yine erken döngülerde eşik çizgisini aşması, bu örneklerde **IBV RNA'sının tespit edildiğini doğrulamaktadır**. Bu bulgu, test edilen numunelerde hedef gen bölgesinin varlığını açıkça göstermekte ve kullanılan RT-PCR sisteminin güvenilir olduğunu ortaya koymaktadır.



Şekil 4.4. Kanatlı Örneklerinde Enfeksiyöz Bronşit Virüsü (IBV)'nün S1 Genini Amplifiye Eden PCR Ürünlerinin (464 bp) Agaroz Jel Elektroforezi, C= Pozitif Kontrol, 16.kuyu= Negatif Kontrol

- Toplam 15 saha örneği, S1 genini hedefleyen PCR ile amplifiye edilmiş ve %2 agaroz jelde, yükleme boyası ile boyanarak görselleştirilmiştir.
- 1–13 numaralı örnekler, Jel A'da (1–13. kuyucuklar) gösterilmiş olup; 14–15 numaralı örnekler ise Jel B'de (14–15. kuyucuklar) yer almaktadır.
- Her bir jelde, PCR ürünlerinin moleküler ağırlığını tahmin etmek amacıyla DNA merdiveni (M) yüklenmiştir.

Beklenen büyüklükte (464 bp) net bantların görülmesi, pozitif örneklerde IBV varlığını doğrulamaktadır.

Bu çalışmada, toplam 65 havuzlanmış grup örneğinin 15'inde (%23,07) RT-PCR yöntemiyle Koronavirüs pozitifliği saptanmıştır. Bunların 4'ü (%6,15) trakeadan, 11'i (%16,92) sekumdan elde edilmiştir. En yüksek sürü prevalansı Yumurtalık (%57,14) ve Karataş (%42,85) ilçelerinde kaydedilmiş, bunu Pozantı (%37,5), Çukurova (%25), Ceyhan (%20) ile Seyhan ve Aladağ (%33,33) takip etmiştir. Buna karşın Sarıçam, Kozan, Yüreğir ve İmamoğlu ilçelerinden elde edilen örneklerin tamamı negatif bulunmuştur (%0). Bu bulgular, Adana ilinin 12 ilçesinden 7'sinde (58.33%) IBV'nin yaygın olduğunu ortaya koymuştur. Pozitif sonuçlar doğal enfeksiyona bağlanmıştır; çünkü yetiştiricilerin hiçbirinin sürülerinde aşı uygulamadığı belirlenmiştir. Ayrıca, enfeksiyonun yeni edinilmiş olabileceği ve bu nedenle kanatlılarda henüz herhangi bir klinik belirti gözlenmediği düşünülmektedir (**Pohjola ve ark., 2015**).

Çalışmada ayrıca, trakeadan alınan 19 örneğin 4'ünde (21,05%) pozitiflik belirlenmiş, sekumdan elde edilen 46 örneğin 11'inde (23,91%) IBV RNA'sı tespit edilmiştir. Bu durum, hem trakea hem de sekum örneklerinin virüsün saptanması ve tanısında kritik öneme sahip olduğunu göstermekte; bu bölgelerin etkili sürveyans ve izleme çalışmalarında anahtar rol üstlendiğini ortaya koymaktadır.

RNA'nın saflığı ve konsantrasyonu NanoDrop spektrofotometresi kullanılarak değerlendirilmiştir. Bu cihaz, A260/A280 ve A260/A230 oranlarını ölçmektedir. Ölçüm sonuçları Çizelge (4.4)'te sunulmuştur. Nükleik asitlerin 260 nm dalga boyunda UV ışığını absorbe etme özelliği sayesinde RNA'nın miktarı ve kalitesi kolayca değerlendirilebilmektedir. Saf RNA örneklerinde A260/A280 oranının $2,0 \pm 0,1$ aralığında, A260/A230 oranının ise 2,0 ile 2,4 arasında olması beklenir. Bu aralıkların dışındaki değerler genellikle kontaminasyonu işaret etmektedir (**Robert ve Farell, 2010**). Çalışmada analiz edilen örneklerin hiçbirinde bu oranların 2,0'ın altında olmadığı görülmüş, bu da kontaminasyonun olmadığını göstermektedir.

NanoDrop spektrofotometrisi, moleküler biyoloji laboratuvarlarında güvenilirliği ve kullanım kolaylığı nedeniyle yaygın olarak tercih edilmektedir. Ek reaktiflere veya uzun protokollere gerek kalmadan RNA örneklerinin hızlı ve doğru şekilde değerlendirilmesine olanak sağlamaktadır. Daha önceki çalışmalarda da belirtildiği gibi, RNA bütünlüğü ve saflığı, RT-PCR testlerinin duyarlılığı ve tekrarlanabilirliği açısından kritik öneme sahiptir (**Wilfinger ve Mackey, 1997; Manchester, 1996**).

Yılmaz ve ark. (2016), Türkiye'nin farklı bölgelerindeki broyler ve yumurtacı sürülerden AvCoV izole etmiş ve trakea örneklerinin 27/30 (%90)'unda AvCoV-IBV RNA pozitifliği belirlemiştir. Bu sonuçlar, mevcut çalışmanın trakeadan alınan örneklerle ilgili bulgularıyla uyumlu değildir. Ancak, aynı araştırmacıların sekumdan elde ettikleri 7/22 (%31,8) oranındaki pozitiflik, bu çalışmadaki sekum bulgularıyla paralellik göstermektedir.

Mevcut çalışma, **Matilda ve ark. (2018)** tarafından Gana'nın Greater Accra bölgesindeki Ga-East ilçesinde yürütülen araştırma ile uyumlu değildir. Söz konusu çalışmada, solunum semptomları bulunmayan ve IBV aşı geçmişi olmayan serbest gezen kanatlılardan toplam 219 trakea

ve kloaka svabı toplanmış ve elde edilen tüm örnekler IBV açısından negatif sonuç vermiştir. Ayrıca, bu çalışmanın bulguları, **Shokri ve ark. (2018)** tarafından İran'ın kuzeyinde yer alan Mazandaran eyaletinde yürütülen araştırma ile de uyusmamaktadır. Shokri ve arkadaşları, 75 tavuktan alınan sekum tonsili örneklerinde RT-PCR uygulamış ve bu örneklerin 31'inde (%41,3) IBV genomunu tespit etmiştir.

Buna karşılık, mevcut çalışmanın sonuçları, komşu ülkelerdeki üretim çiftliklerinde bildirilen oranlara kıyasla daha düşük bir prevalans göstermektedir. Örneğin, Ürdün'de %58,8 ve İran'da %42,8 prevalans oranları sırasıyla **Seyfi Abad Shapouri ve ark. (2004)** ile **Roussan ve ark. (2009)** tarafından rapor edilmiştir. Bu farklılık, IBV prevalansının bölgesel düzeyde değişkenlik gösterebileceğini ortaya koymakta ve hastalığın doğru anlaşılması ile etkin yönetimi için yerel araştırmaların önemini vurgulamaktadır. Ayrıca, söz konusu çalışmalarda örneklerin daha yoğun popülasyonlu kümeslerden elde edilmiş olması, enfeksiyonun bulaşma oranını artırarak daha yüksek prevalans değerlerine yol açmış olabilir. Farklı yönetim uygulamaları ve sürü yoğunlukları, IBV'nin yayılımı ve prevalansı üzerinde önemli bir etkiye sahiptir.

IBV'nin trakeadan izole edilmesi için en uygun dönem, enfeksiyonun akut evresidir. Ancak, virüs enfeksiyonu takiben sekum tonsillerinde daha uzun süre (haftalar boyunca) varlığını sürdürebilmekte ve dışkıyla atılım göstermektedir (**De Wit ve ark., 2014**). Çalışmamızda örneklenen kanatlılarda az sayıda veya hiç solunum belirtisi gözlenmemesi, trakeadan viral RNA izolasyonu şansımızı düşüren bir faktör olmuştur. Ayrıca, dışkı yoluyla virüs atılımının zamanlaması da örnekleme sürecine denk gelmemiş olabilir; nitekim birçok örnekte kloakal svaplarda viral RNA tespit edilememiştir.

Diğer taraftan, çalışmamızın bulguları, Batı Afrika ülkelerinden **Emekpe ve ark. (2010)**, **Adebiyi ve Fagbohun (2017)** ile **Kouakou ve ark. (2015)** tarafından bildirilen sonuçlarla uyumludur. Bu araştırmalarda serbest gezen tavuklarda IBV prevalansı yaklaşık %21,2 olarak rapor edilmiştir. Benzer şekilde, **Al-Shekaili ve ark. (2015)** tarafından 243 sürüde gerçekleştirilen RT-PCR analizlerinde, 39 sürüde IBV pozitifliği tespit edilmiş ve prevalans oranı %16,05 olarak bildirilmiştir. Ayrıca, **Kouakou ve ark. (2015)**, 2010–2012 yılları arasında hem köy hem de ticari tavuk çiftlikleri ile canlı kanatlı pazarlarından alınan toplam 22.806 trakeal ve kloakal svabı havuzlayarak 4.562 örnek oluşturmuş, bunların 423'ünün (%18,5) RT-PCR ile IBV pozitif olduğunu bildirmiştir.

Mevcut çalışmada kullanılan örneklem büyüklüğünün daha küçük olması, gözlenen varyasyonun nedenlerinden biri olabilir. Ayrıca, yerel tavuklarda daha düşük prevalans oranları, ülkedeki ticari sürülerde IBV aşılarının kullanılmamasıyla da ilişkili olabilir. Bu farklılığın çevresel, konak veya patolojik faktörlerden ziyade, esasen örneklem büyüklüğündeki farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu durum, sağlam bir çalışma tasarımının ve yeterli örneklem büyüklüğünün, doğru prevalans değerlendirmeleri açısından kritik önem taşıdığını göstermektedir.

Finlandiya’da **Pohjola ve ark. (2017)** tarafından yürütülen bir çalışmada, 51 köy tavuk çiftliğinden elde edilen 457 bireysel kloakal swap incelenmiş ve bu çiftliklerden 5’inde (%10) koronavirüs pozitifliği RT-PCR ile doğrulanmıştır. Bu düşük prevalansın, çalışma döneminde çevredeki düşük viral yükten kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür.

Gerçek zamanlı PCR ve konvansiyonel PCR’nin birlikte kullanımı, tavuklarda enfeksiyöz bronşit virüsünün (IBV) tespiti ve karakterizasyonunda güçlü bir yaklaşım olarak kanıtlanmıştır. Gerçek zamanlı PCR, yüksek duyarlılık ve özgüllük sağlayarak klinik örneklerde viral RNA’nın kantitatif olarak saptanmasına imkân tanır. Amplifikasyonun anlık olarak izlenebilmesi, düşük viral yük taşıyan örneklerde bile erken teşhisi mümkün kılmakta ve saha koşullarında hızlı tarama için oldukça uygun hale getirmektedir (**Calison ve ark., 2006**). Öte yandan, konvansiyonel PCR ise IBV’nin kalitatif tespiti için hâlâ yaygın kullanılan değerli bir yöntem olup, özellikle sekanslama ve filogenetik analiz gibi ileri uygulamalarda gen amplifikasyonu için kritik rol oynamaktadır. Bu iki yöntemin bir arada kullanılması tanısal doğruluğu artırmakta, aynı zamanda IBV’nin genetik çeşitliliği ve evriminin anlaşılmasına katkı sağlamakta, bu da aşı geliştirme ve hastalık kontrol stratejileri açısından büyük önem taşımaktadır.

Enfeksiyöz bronşit virüsü (IBV) tarafından oluşturulan avian koronavirüs enfeksiyonları, son yıllarda kümes hayvancılığı endüstrisinin temel unsurlarından biri olan tavuklarda oluşturdukları sağlık ve ekonomik kayıplar nedeniyle dünya çapında araştırmacıların odak noktası hâline gelmiştir. AvCoV’ler ve kanatlı endüstrisi ile ilişkileri üzerine yapılan sürekli çalışmalara rağmen, yabani ve sinantropik kuşlardaki AvCoV baskınlığı ve dağılımına ilişkin veriler hâlen sınırlıdır. Bu nedenle, mevcut çalışmamız, Türkiye’de viral bronşite neden olan avian koronavirüs suşlarının moleküler evrimini epidemiyolojik bir bakış açısıyla ortaya koymayı amaçlamaktadır. Ayrıca, bu çalışma Türkiye’de baskın şekilde dolaşımda bulunan epidemik avian koronavirüs suşlarının genetik akrabalıklarını, evrimsel süreçlerini, populasyon dinamiklerini ve dünya genelinde diğer ülkelerden bildirilen yakın ilişkili viral suşlarla genetik bağlantılarını açıklamayı hedeflemiştir. Çalışmada, kanatlı koronavirüsünün yüzeysel yapısal proteini olan spike (S) proteini kullanılarak, belirgin klinik bronşit semptomları sergileyen enfekte kuşlardan elde edilen viral ajanların genetik kimlikleri doğrulanmıştır.

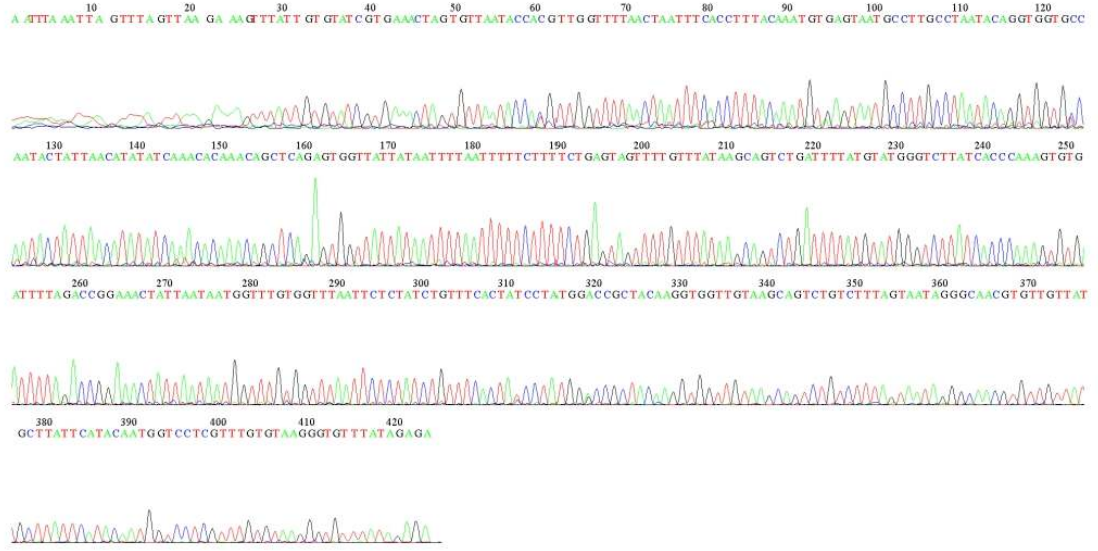
Spike glikoproteininin S1 alt biriminde meydana gelen mutasyonlar, IBV’nin evriminde kritik bir rol oynamakta ve virülans ile bulaşıcılık üzerinde önemli etkiler yaratabilmektedir. S1 alt birimi, virüsün konak hücre reseptörlerine bağlanmasından sorumludur ve doku tropizminin yanı sıra bağışıklık tanınmasında da temel belirleyicidir (**Jackwood ve ark., 2012**). Bu bölgede gerçekleşen aminoasit değişimleri, antijenik varyasyonlara yol açarak virüsün konak bağışıklığından veya aşı kaynaklı korumadan kaçmasına imkân tanıyabilir. Böyle bir durum daha ağır klinik Çizelgelerin ortaya çıkmasına veya konak yelpazesinin genişlemesine sebep olabilir. Ayrıca, bazı mutasyonların replikasyon verimliliğini artırdığı ve daha geniş doku tropizmi sağladığı bildirilmiştir; bu da sürüler içinde ve sürüler arasında viral yayılımı hızlandırabilir. Bu değişiklikler hastalık kontrolünü

zorlaştırmakta ve sürekli moleküler sürveyans ile güncel aşı formülasyonlarının gerekliliğini ortaya koymaktadır (**Cavanagh, 2003; Lee ve Jackwood, 2001**).

Filogenetik yorumlar, patojen suşlarının moleküler eko-epidemiolojisinin incelenmesi ve epidemiyolojik açıdan önemli kriterlerin aydınlatılmasında son derece yararlı araçlardır. Bu analizler, hâlihazırda baskın olan viral varyantların moleküler karakterizasyonunun yapılmasına ve yeni ortaya çıkan varyantların keşfine imkân tanır. Ayrıca, filogenetik yöntemler yeni ortaya çıkan varyantların evrimsel geçmişinin incelenmesinde de önemli bir rol oynamaktadır (**Lemey ve ark., 2009; Yang ve Rannala, 2012**).

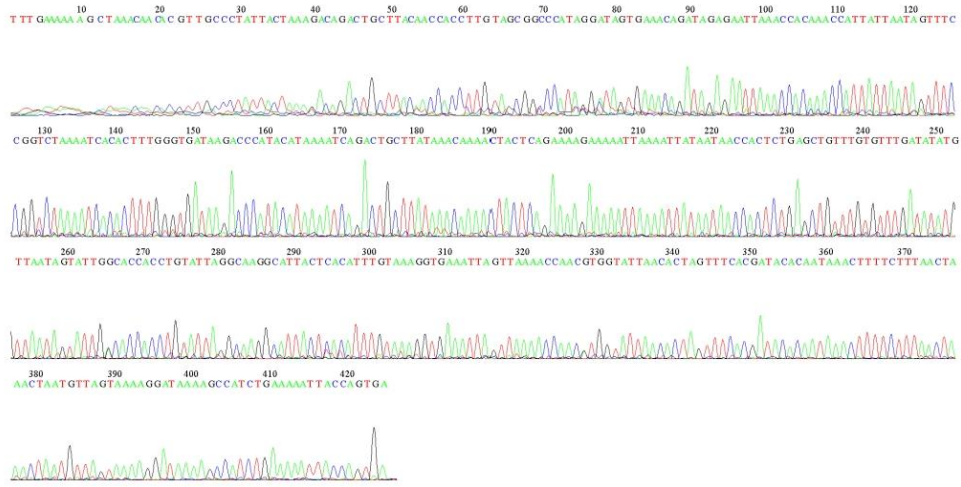
Avian Enfeksiyöz Bronşit Virüsü'nün (IBV) GI-23 soy hattı, diğer adıyla IS-var 2, son yıllarda Türkiye, İsrail, Lübnan, Libya, Ürdün, Mısır ve diğer Orta Doğu ülkelerinde giderek daha fazla bildirilmektedir (**Yılmaz ve ark., 2016**). Bu genotip ilk kez 2004 yılında İsrail'de tespit edilmiş olup (Meir ve ark., 2004), ilerleyen yıllarda Orta Doğu'daki birçok ülkede rapor edilmiştir. Türkiye'de ise IS-var 2 genotipi, 2014–2019 yılları arasında ticari broyler sürülerinde belirlenmiş ve GI-23 genotipi ile %99 oranında nükleotid benzerliği göstermiştir. Avrupa ülkelerinde genellikle Mass41, 4/91, D274, Italy 02 ve QX gibi serotipler bildirilmekle birlikte, son araştırmalar IS-var 2 genotipinin Avrupa'da da tespit edildiğini ortaya koymuştur (**Yılmaz ve ark., 2016**). Nitekim 2015 yılında Polonya'da, Orta Doğu kökenli GI-23 soy hattı ilk kez broyler ve yumurtacı sürülerde izole edilmiştir. Bunu takiben Almanya, Romanya, Litvanya ve Ukrayna'da da tespitler yapılmıştır (**Bassam ve ark., 2019**). Bu yayılım, GI-23 soy hattının coğrafi dağılımının genişlediğini ve hem Orta Doğu hem de Avrupa'daki kanatlı popülasyonları açısından önem arz ettiğini göstermektedir.

Orta Doğu kökenli IS-var 2 genotipinin Türkiye ve birçok ülkede saptanması, bu varyantın kıtalar arası geniş çapta yayılım gösterdiğini ve bunun çoklu bulaşma yollarıyla gerçekleştiğini ortaya koymaktadır (**Houta ve ark., 2021**). Kontrolsüz insan hareketliliği, uluslararası hayvan ticareti (özellikle deniz yoluyla yapılan nakliyat) ve göçmen yabani kuşlar bu genotipin kıtalar arasında taşınmasında olası faktörler olarak değerlendirilmektedir. Özellikle yabani kuşlar, Gammakoronavirüslerin asemptomatik taşıyıcıları olarak rol oynayabilmekte ve yeni IBV suşlarının kümes hayvanı popülasyonlarına girişine aracılık edebilmektedir (**Rahman ve ark., 2015; Nabavi ve ark., 2016**).



Şekil 4.5-A. Sanger Dizileme Yöntemi ile 3\ _XCE1 Örneğinden Elde Edilen Kısmi Nükleotid Sekansının Elektrogram Çıktısı

- Şekilde, 3\ _XCE1 örneğine ait DNA sekansının Sanger dizileme yöntemi ile elde edilmiş elektrogram çıktısı sunulmaktadır.
- Elektrogram, toplam 424 bazlık bir nükleotid dizisini göstermekte olup, özellikle dizinin başlangıç ve orta bölgelerinde yüksek sinyal kalitesine sahip olduğu görülmektedir.
- Sekansın son kısımlarında sinyal netliğinde hafif bir düşüş gözlenmiş olup, bu durum Sanger dizileme tekniğinde uzun okumalarda yaygın olarak karşılaşılan bir durumdur.
- Genel olarak sekans kalitesi iyi düzeydedir ve çoklu dizi hizalaması (MSA), BLAST karşılaştırmaları ve filogenetik analizler gibi ileri moleküler analizler için uygun niteliktedir.



Şekil 4.5-B. Sanger Dizileme Yöntemi ile 3\ _XCE2 Örneğinden Elde Edilen Kısmi Nükleotid Sekansının Elektrogram Çıktısı

- Şekilde, 3\ _XCE2 örneğine ait DNA sekansının Sanger dizileme yöntemiyle elde edilmiş elektrogram çıktısı gösterilmektedir.
- Elektrogram, toplam 425 bazlık bir nükleotid dizisini içermekte olup, özellikle dizinin başlangıç ve orta bölgelerinde yüksek sinyal kalitesine sahip olduğu görülmektedir.
- Sekansın son kısımlarında sinyal netliğinde hafif bir düşüş gözlemlenmiştir; bu durum, Sanger dizileme yönteminde uzun okumalarda sıklıkla rastlanan tipik bir durumdur.
- Genel olarak sekans kalitesi tatmin edici düzeydedir ve çoklu dizi hizalaması (MSA), BLAST karşılaştırmaları ile filogenetik analizler gibi ileri moleküler çalışmalar için uygun niteliktedir.

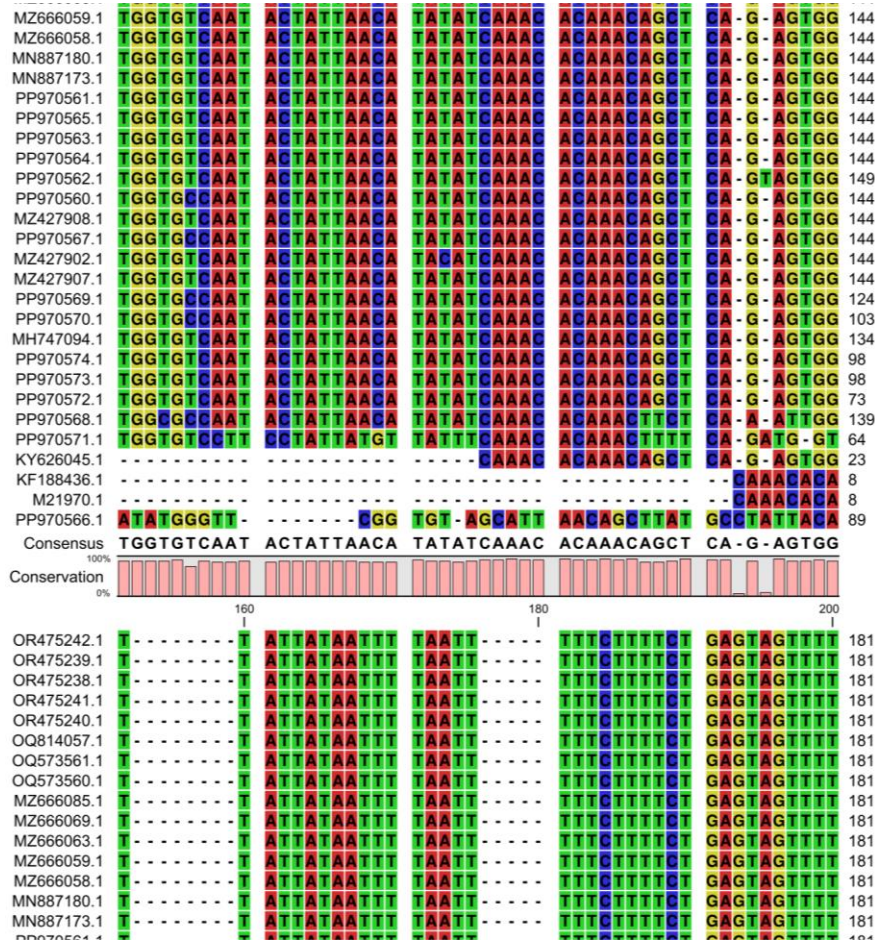
Bu çalışmada, Avian Koronavirüslerin (AvCoV'ler) S1 geninin dizilemesi 15 pozitif saha örneği üzerinde başarıyla gerçekleştirilmiş ve elde edilen tüm nükleotid dizileri GenBank veritabanına yüklenmiştir. İlgili kayıtlar şu anda “Unverified” (Doğrulanmamış) olarak işaretlenmiştir. Bu, GenBank kürasyon ekibi tarafından manuel inceleme yapılmadan önce yaygın olarak verilen geçici bir statüdür. Bu durum genellikle eksik anotasyonlardan, hakemli bir makale ile bağlantı kurulmamış olmasından veya biyolojik meta verilerin (örneğin, örnek kaynağı, konak bilgileri ya da klinik bilgiler) yetersizliğinden kaynaklanabilmektedir. Önemle vurgulamak gerekir ki, bu statü dizilerin kalitesiyle ilgili bir eksiklikten değil, gönderim dosyasındaki tamamlayıcı bilgilerin yeterliliğinden kaynaklanmaktadır. Söz konusu diziler bilimsel bir makalede yayımlandığında veya ek biyolojik veriler sağlandığında, bu doğrulama statüsünün güncellenmesi beklenmektedir.

Çizelge 4.5. Adana İlinden toplanarak incelenen tavuk örneklerinden elde edilen IBV izolatlarının kısmi S1 genine ait temel dizi bilgileri

Örnek No	GenBank Erişim No.	Ülke/İzolât Adı	Sekans Uzunluğu (bp)
1	PP970560.1	Türkiye/XCE_3/2023	402
2	PP970561.1	Türkiye/XCE_6/2024	402
3	PP970562.1	Türkiye/XCE_7/2025	416
4	PP970563.1	Türkiye/XCE_8/2026	401
5	PP970564.1	Türkiye/XCE_9/2027	404
6	PP970565.1	Türkiye/XCE_10/2028	560
7	PP970566.1	Türkiye/XCE_11/2029	459
8	PP970567.1	Türkiye/XCE_12/2030	469
9	PP970568.1	Türkiye/XCE_14/2031	409
10	PP970569.1	Türkiye/XCE_15/2032	435
11	PP970570.1	Türkiye/XCE_16/2033	388
12	PP970571.1	Türkiye/XCE_18/2034	350
13	PP970572.1	Türkiye/XCE_24/2035	421
14	PP970573.1	Türkiye/XCE_25/2036	355
15	PP975074.1	Türkiye/XCE_27/2037	356

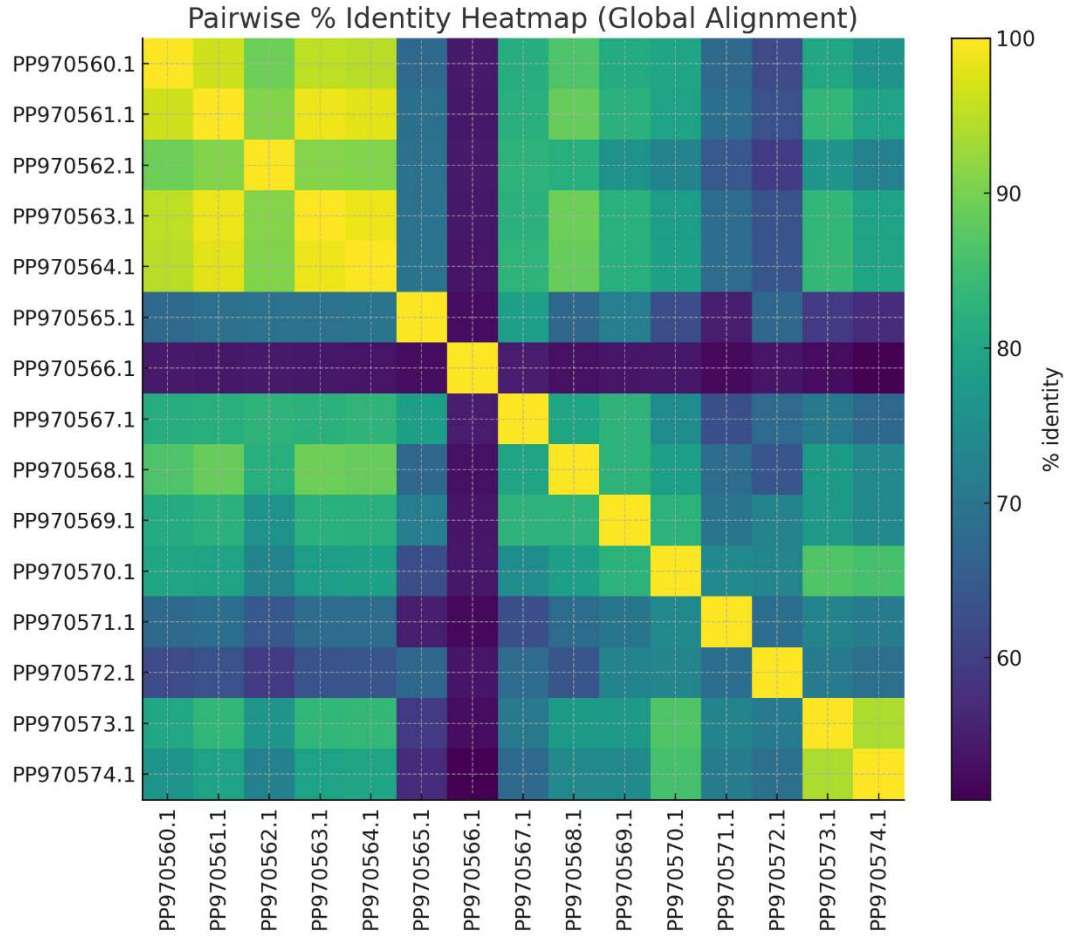
Bu çalışmada elde edilen Enfeksiyöz Bronşit Virüsü (IBV) izolatları ile GenBank veri tabanından alınan referans sekanslar arasında çoklu dizi hizalaması yapılmıştır. Yapılan hizalama, hedef genin geniş bölgelerinde yüksek oranda nükleotid benzerliği ortaya koymuştur. Bununla birlikte, belirli pozisyonlarda birkaç tek nükleotid polimorfizmi (SNP) ve zaman zaman ekleme/silme (indel) olayları gözlenmiştir. Bu varyasyonların, viral evrim sürecinde kazanılan nokta mutasyonlarını yansıttığı ve potansiyel olarak virüsün antijenitesini veya farklı çevresel koşullara ve konakçı bağışıklık baskılarına adaptasyonunu etkileyebileceği düşünülmektedir.

Genel olarak hizalanan diziler, ilgili referans suşları ile yakın benzerlik paternleri göstermiştir; ancak bazı lokuslarda belirgin nükleotid farklılıklarını korumuştur. Bu tür moleküler varyasyonlar, filogenetik çıkarımlar için değerli belirteçler sağlamaktadır ve saha izolatları ile dünya genelinde dolaşan suşlar arasındaki genetik ilişkilerin tanımlanmasına yardımcı olmaktadır. Dolayısıyla, hizalama sonuçları, sonraki aşamada gerçekleştirilecek filogenetik ağaç oluşturma ve genotip sınıflandırması için kritik bir ön basamak niteliği taşımaktadır.



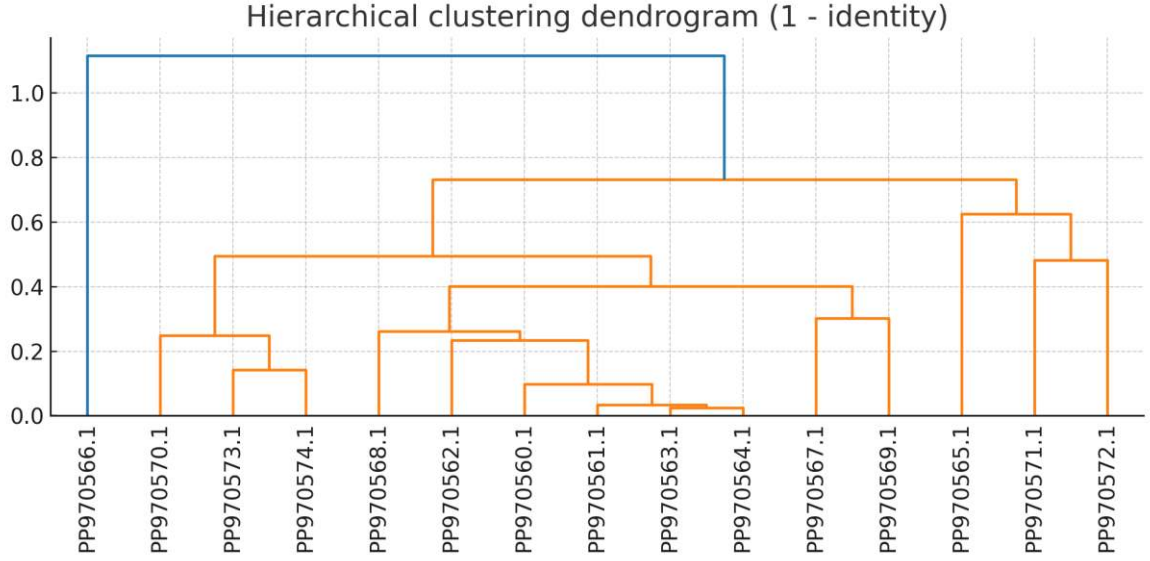
Şekil 4.6. IBV izolatları ve referans suşlarının kısmi spike (S) geninin çoklu dizi hizalaması

Bu şekil, Enfeksiyöz Bronşit Virüsü (IBV) saha izolatlarından (PP erişim numaraları) elde edilen kısmi spike (S) gen nükleotid dizilerinin, GenBank veritabanından alınan seçilmiş referans suşlarıyla karşılaştırmalı çoklu dizi hizalamasını göstermektedir. Korunmuş nükleotidler renkli bloklarla belirtilmiştir (adenin: kırmızı, timin: yeşil, sitozin: mavi, guanin: sarı), değişken pozisyonlar ise altta gösterilen konsensüs dizisinden sapmalarla işaretlenmiştir. Hizalamanın altında yer alan korunum çubuğu, tüm diziler arasında her bir pozisyondaki nükleotid benzerlik derecesini göstermektedir; pembe renk tam korunum anlamına gelmektedir.



Şekil 4.7. Kısmi S1 geninin yüksek doğruluklu küresel hizalamasına dayalı olarak 15 IBV saha izolatının ikili yüzde benzerlik ısı haritası

- Isı haritası, incelenen izolatların tüm ikili kombinasyonları arasındaki nükleotid benzerliğini (%) göstermektedir. Diyagonal üzerindeki sarı kareler %100 benzerliği (öz karşılaştırma) temsil ederken, daha sıcak renkler (yeşil-sarı) daha yüksek dizi benzerliğini, daha soğuk renkler (mavi-mor) ise daha düşük benzerliği göstermektedir.
- Kümeleme desenleri, filogenetik ağaç ve hiyerarşik kümeleme sonuçlarıyla uyumlu olarak, birbirine yakın ilişkili izolat gruplarını (%90'dan fazla benzerlik) ve daha düşük benzerlik gösteren diğerlerini (%70'in altında) ortaya koymaktadır

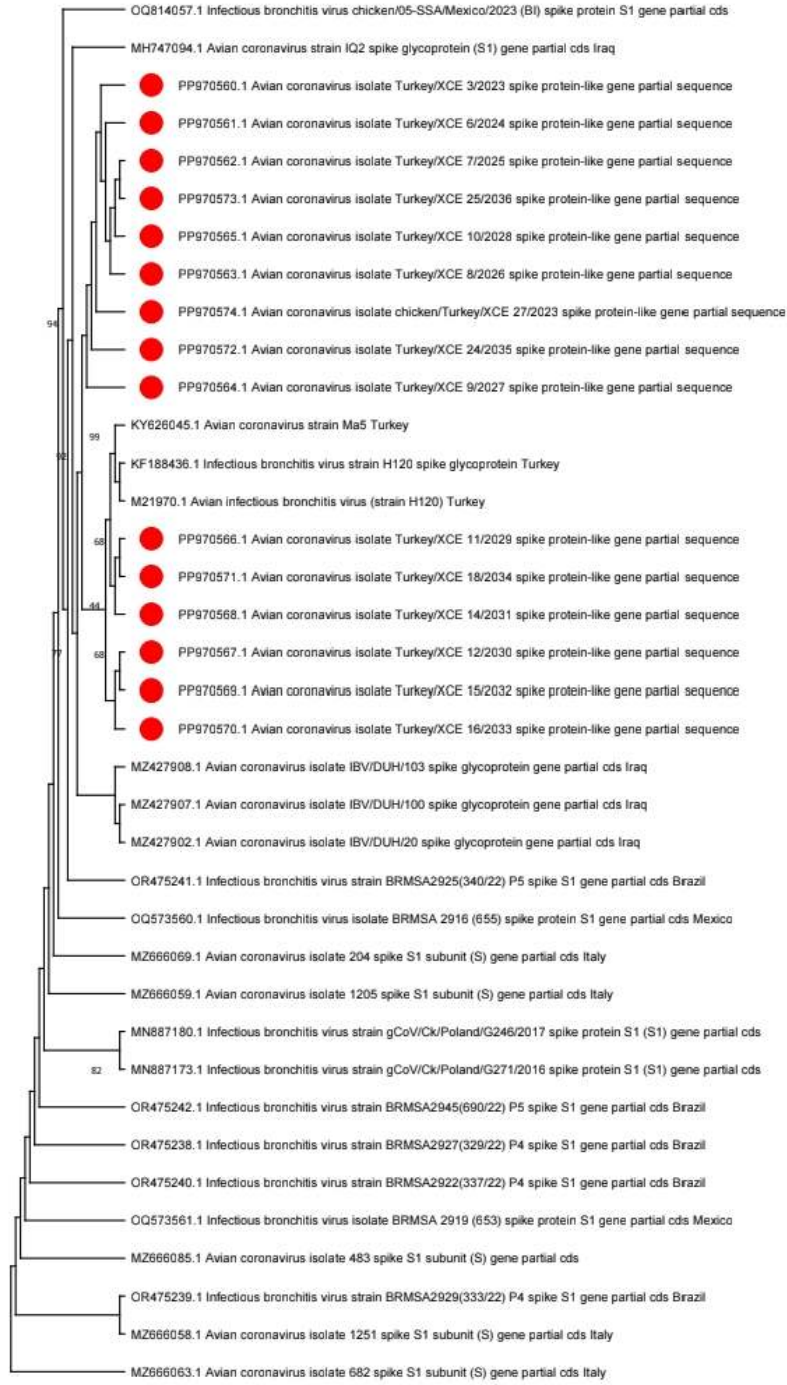


Şekil 4.8. Çiftli dizi benzerliğine (1 – benzerlik metriği) dayalı olarak 15 IBV saha izolatının hiyerarşik kümeleme dendrogramı

Dendrogram, kısmi S1 gen dizilerinden elde edilen incelenen IBV izolatları arasındaki genetik akrabalığı göstermektedir. Kümeler hiyerarşik kümeleme yöntemiyle oluşturulmuştur; daha kısa dal uzunlukları daha yüksek nükleotid benzerliğini ve daha yakın genetik ilişkileri göstermektedir. Örneğin PP970561.1, PP970563.1 ve PP970564.1 gibi bazı izolatlar yüksek dizi benzerliği ve yakın ortak ata ile uyumlu olarak sıkı kümeler oluştururken, PP970566.1 gibi diğerleri daha farklı dallarda konumlanmış ve daha yüksek genetik farklılık göstermiştir. Kümeleme deseni, filogenetik ağaç ve ikili benzerlik ısı haritası sonuçlarıyla uyumludur.

Çalışmada incelenen izolatlar arasında yapılan ikili benzerlik analizi, hem %95 hem de %90 benzerlik eşiklerinde farklı kümelendirme desenleri ortaya koymuştur. %95 ve üzeri benzerlikte, bazı izolatlar yüksek dizi korunumu ve yakın ortak ata varlığını işaret eden sıkı genetik kümeler oluşturmuştur; bu bulgu, IBV moleküler epidemiyolojisine ilişkin önceki çalışmalarla da tutarlıdır (Valastro ve ark., 2016; Jackwood, 2012). Buna karşılık, eşik %90'a düşürülmesi daha geniş kladlara ek izolatların dahil edilmesine ve daha uzak evrimsel ilişkilerin ortaya çıkmasına yol açmıştır. Bu desenler, daha yakın ilişkili izolatların daha koyu renk yoğunluğu ile gösterildiği ve daha yüksek nükleotid benzerliğini yansıttığı, daha farklı dizilerin ise daha açık tonlarla görselleştirildiği ısı haritasıyla da doğrulanmıştır. Hiyerarşik kümeleme dendrogramı da bu bulguları desteklemiş, genetik olarak benzer izolatları kısa dal uzunluklarına sahip ayrı dallara ayırarak minimal genetik farklılıkları işaret etmiştir (Mo ve ark., 2013; de Wit ve ark., 2021).

Toplu olarak, bu sonuçlar bazı izolatların yüksek genomik benzerlik paylaştığını, diğerlerinin ise ayrı kümelere yerleştirilecek kadar farklılık gösterdiğini ortaya koymaktadır. Bu durum, çalışılan spike gen fragmanlarında hem korunan hem de değişken bölgelerin bulunduğunu ve bunların antijenisite ile epidemiyolojik yayılımı etkileyebileceğini vurgulamaktadır (Jordan, 2017).



Şekil 4.9. Saha izolatları ve referans suşlardan elde edilen IBV kısmi spike (S1) gen dizilerinin filogenetik ağacı

Filogenetik ağaç, bu çalışmada elde edilen Enfeksiyöz Bronşit Virüsü (IBV) saha izolatlarının kısmi S1 gen dizileri (kırmızı dairelerle vurgulanan) ile GenBank'tan alınan referans suşlar kullanılarak oluşturulmuştur. Analiz, tüm saha izolatlarının belirli Türk referans suşlarıyla yakın kümелendiğini ve yüksek derecede genetik akrabalık gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu kümelenme deseni, incelenen izolatların Türkiye'de dolaşımda olan aynı genotip veya soy hattına ait

olabileceğini ve grup içinde minimal genetik farklılık bulunduğunu düşündürmektedir. Kümelenmenin diğer küresel referans suşlara göre konumu ise, bölgesel olarak daha önce bildirilen suşlarla yakınlık sürdürürken filogenetik açıdan kendine özgü bir farklılık sergilediğini göstermektedir.

GenBank'tan alınan temsilci referans suşlarıyla birlikte hizalanan diziler kullanılarak oluşturulan filogenetik ağaç, tüm saha izolatlarının Türk referans suşlarıyla birlikte tek bir klad içinde sıkı şekilde kümelendiğini göstermiştir. Bu kümelene deseni ve hizalamada gözlemlenen minimal genetik farklılık, incelenen izolatların halihazırda Türkiye'de yaygın olarak dolaşan aynı genotipe ait olduğu hipotezini desteklemektedir. İzolatların İsrail, Brezilya ve İtalya gibi diğer bölgesel ve küresel suşlardan ayrışması ise lokal evrim ve bölgesel kanatlı popülasyonlarına olası adaptasyonu işaret etmektedir.

15 IBV saha izolatının kısmi S1 genine dayalı yüksek doğruluklu global hizalama sonuçlarına göre yapılan ikili dizi benzerliği analizi, filogenetik ağaç ve hiyerarşik kümelene sonuçlarıyla tutarlı net bir genetik kümelene deseni ortaya koymuştur. İzolatların çoğu %80'in üzerinde dizi benzerliği paylaşıırken, bazıları %95'in üzerinde kimlik oranlarıyla sıkı kümeler oluşturmuştur. Örneğin PP970561.1 ile PP970564.1 ve PP970562.1 ile PP970563.1, yakın ortak ata ve minimal genetik farklılığı işaret eden kümeler halinde yer almıştır. Filogenetik topoloji ve ısı haritası tabanlı kümelene de bu bulguları desteklemiş, yüksek benzerliğe sahip izolatları kısa genetik mesafelerle aynı dallarda gruplandırmıştır. Buna karşılık, PP970566.1 ve PP970567.1 gibi izolatlar daha farklı suşlarla (ör. PP970568.1, PP970572.1) karşılaştırıldığında %50–70 arasında daha düşük benzerlik göstermiş, filogenetik ağaçta ayrı dallar ve ısı haritasında farklı kümeler oluşturmuştur. Çeşitli analitik yaklaşımlar arasındaki bu uyum, incelenen popülasyon içinde birbirine çok yakın ilişkili IBV varyantlarının yanı sıra genetik olarak daha farklı soyların da birlikte var olduğuna dair kanıtları güçlendirmektedir (Feng ve ark., 2014).

Bu moleküler paternler birlikte değerlendirildiğinde, bölgedeki IBV'nin dinamik genetik yapısını ortaya koymakta ve virüsün evrimi ile epidemiyolojisine dair önemli veriler sunmaktadır. Bu bulgular, tespit edilen mutasyonların sınırlı olmasına rağmen antijeniteyi ve aşı etkinliğini etkileyebileceği için IBV genotip evrimini izlemeye yönelik sürekli moleküler surveyansın önemini vurgulamaktadır.

Filogenetik ağaçta, KY626045.1 (Ma5), KF188436.1 (H120 spike glikoproteini) ve M21970.1 (H120) kodlu referans suşlar, yaygın olarak kullanılan Massachusetts (Mass) genotipine ait canlı attenüe aşı suşlarını temsil etmektedir. Bu suşlar, çalışmada elde edilen saha izolatlarının ticari kanatlı üretiminde uygulanan aşılarda olan genetik yakınlığını değerlendirmek amacıyla analizde yer almıştır.

Filogenetik topoloji, çalışmada elde edilen saha izolatlarının Ma5 veya H120 aşı suşlarıyla doğrudan kümelenemediğini göstermektedir. Bunun yerine, izolatlar Türk saha referans suşlarıyla yakın kümelene ayrı bir klad içerisinde yer almakta ve farklı bir evrimsel yol izlediklerini ortaya

koymaktadır. Saha izolatları ile aşı suşları arasındaki dal uzunlukları nispeten fazladır; bu da kısmi S1 geninde belirgin nükleotid farklılıklarını yansıtmaktadır.

Bu ayrışma, mevcut saha izolatlarının Massachusetts tip aşı virüslerinden genetik olarak uzaklaştığını ve sahadan doğrudan yeniden izolasyon sonucu ortaya çıkmadığını düşündürmektedir. Bunun yerine, Türkiye’de lokal olarak dolaşımda olan ve bağımsız şekilde evrimleşmiş saha genotipleriyle daha uyumlu görünmektedir. Bu sonuçlar, aşı suşlarıyla genetik mesafenin antijenik uyumu etkileyebileceğini ve dolayısıyla bölgedeki IBV salgınlarını kontrol etmede aşı etkinliğini belirleyebileceğini göstermesi bakımından önemli stratejik sonuçlara sahiptir.

Türk ve aşı suşlarının yanı sıra, filogenetik ağaç farklı coğrafi kökenlerden uluslararası referans dizilerini de içermektedir. Meksika (OQ814057.1, OQ573560.1, OQ573561.1) ve Brezilya (OR475241.1, OR475242.1, OR475238.1, OR475240.1, OR475239.1) kökenli suşlar, Latin Amerika’da dolaşımda olan ve çalışmada incelenen izolatlarla doğrudan genetik bağlantısı bulunmayan farklı kladlarda konumlanmıştır. İtalya’dan (MZ666069.1, MZ666059.1, MZ666058.1, MZ666063.1, MZ666085.1) ve Polonya’dan (MN887180.1, MN887173.1) elde edilen izolatlar ise Avrupa’ya özgü ayrı dallarda kümelenmiş ve Orta Doğu ile Türk suşlarından ayrılmıştır.

Irak izolatları (MH747094.1, MZ427908.1, MZ427907.1, MZ427902.1) incelenen izolatlarla orta düzeyde genetik uzaklık göstermiş ve Orta Doğu içinde bölgesel genetik çeşitliliğe işaret eden ayrı kladlar oluşturmuştur. Ancak bu izolatlar, mevcut saha izolatlarını içeren Türk grubuyla doğrudan kümelenmemiştir.

İsrail varyantı IS/1494/06 (EU780077.2), saha izolatlarıyla belirgin genetik farklılık göstermesi nedeniyle çoklu dizi hizalamasına ve filogenetik rekonstrüksiyona dahil edilmemiştir. Bu tür bir farklılık, hizalama kalitesini ve ağaç topolojisini olumsuz etkileyebilirdi. Bununla birlikte, BLAST analizinde gözlenen nispeten yüksek nükleotid benzerliği, önemli evrimsel uzaklığa rağmen İsrail varyantı ile incelenen izolatlar arasında hâlen bazı korunan genomik bölgelerin paylaşıldığını göstermektedir.

Genel olarak, filogenetik dağılım bu çalışmadaki saha izolatlarının en yakın ilişkisinin Türk saha referans suşlarıyla olduğunu, ancak hem aşı suşlarından hem de diğer uluslararası genotiplerden genetik olarak farklılık gösterdiğini doğrulamaktadır. Bu durum, Türkiye’de lokal evrim hipotezini desteklemekte ve yabancı suşların olası girişlerini tespit etmek için sürekli moleküler surveyansın önemini ortaya koymaktadır.

Çizelge 4.6. IBV S1 izolatları için BLAST'taki en yüksek eşleşmeler (filogenetik ağaç referanslarına dayalı).

Sorgu (Query)	En Yakın Uluslararası Eşleşme (Erişim No – Adı)	Ülke/Yıl	Benzerlik %	Hizalama Uzunluğu / Kapsama	E-değeri
PP970560.1	EU780077.2 – IBV IS/1494/06 (Israel-like)	İsrail, 2006	97.49%	1598	0.0
PP970561.1	EU780077.2 – IBV IS/1494/06 (Israel-like)	İsrail, 2006	97.99%	1598	0.0
PP970562.1	MZ427907.1 – IBV/DUH/100 S1	Irak, 2021	96.66%	461	0.0
PP970563.1	EU780077.2 – IBV IS/1494/06 (Israel-like)	İsrail, 2006	97.99%	1598	0.0
PP970564.1	EU780077.2 – IBV IS/1494/06 (Israel-like)	İsrail, 2006	97.51%	1598	0.0
PP970565.1	KF188436.1 – IBV H120 (aşı suşu) M21970.1	Türkiye	82.41%	3489 1611	2e-101 7e-102
PP970566.1	(divergent)	—	—	—	—
PP970567.1	KF188436.1 – IBV H120 (aşı suşu)	Türkiye	82.41%	3489	1e-101
PP970568.1	EU780077.2 – IBV IS/1494/06 (Israel-like)	İsrail, 2006	93.37%	1598	3e-169
PP970569.1	MZ427902.1 – IBV/DUH/20 S1	Irak, 2021	98.69%	462	0.0
PP970570.1	MZ427908.1 – IBV/DUH/103 S1	Irak, 2021	98.34%	449	0.0
PP970571.1	OQ814057.1 – Meksika izolatı	Meksika 2022–23	87.71%	1274	6e-100
PP970572.1	MZ666059.1 – İtalya S1 izolatları	İtalya, 2021	98.47%	1614	1e-168
PP970573.1	KF188436.1 – IBV H120 (aşı suşu)	Türkiye	85.48%	3489	2e-89
PP970574.1	EU780077.2 – IBV IS/1494/06 (Israel-like)	İsrail, 2006	98.30%	1598	0.0

- İsrail-benzeri suş EU780077.2 (IBV IS/1494/06), epidemiyolojik önemi ve bazı saha izolatlarıyla gösterdiği yüksek BLAST benzerliği (%97–98) nedeniyle referans olarak dahil edilmiştir. Ancak, filogenetik analiz bu suşu ayrı bir dalda konumlandırmış ve yerel izolatlarla doğrudan kümelenme göstermemiştir.

İsrail-benzeri referans suş EU780077.2 (IBV IS/1494/06), dünya çapında tanınan ve epidemiyolojik açıdan önemli bir genotipi temsil etmesi nedeniyle filogenetik ağaç oluşturulurken

kullanılan referans diziler arasında yer almıştır. Bununla birlikte, bu çalışmada elde edilen saha izolatlarıyla doğrudan kümelenmemiştir. Bu farklılık, BLAST tabanlı benzerlik değerlendirmesi ile filogenetik analiz arasındaki metodolojik farklılıklarla açıklanabilir. BLAST sonuçları, bazı saha izolatları ile İsrail-benzeri suş arasında %97–98’e kadar çıkan yüksek nükleotid benzerliği göstermiştir; ancak filogenetik ağaç, hedeflenen S1 gen bölgesindeki hizalanmış dizilerden hesaplanan evrimsel mesafelere dayanmaktadır. Dizilerdeki küçük varyasyonlar, dizi uzunluğu kapsamındaki farklılıklar veya mutasyonların gen boyunca dağılımı dallanma düzenini etkileyebilir ve doğrudan kümelenmeyi engelleyebilir (Hall, 2013; Smith ve ark., 2016). Bu nedenle, İsrail-benzeri suş karşılaştırmalı amaçlarla referans olarak kullanılmış, ancak ağaç topolojisinde saha izolatlarından filogenetik olarak ayrı kalmıştır.

Türkiye’de yapılan önceki çalışmalarda da benzer bulgular rapor edilmiştir; saha izolatlarının yabancı referans suşlarla yüksek BLAST benzerliği göstermesine rağmen filogenetik olarak onlarla kümelenmediği bildirilmiştir (Kahya ve ark., 2013; Yılmaz ve ark., 2016; Müştak ve ark., 2022).

Filogenetik analizi tamamlamak amacıyla, İsrail varyantı IS/1494/06 (EU780077.2) saha izolatlarıyla ikili BLAST analizi kullanılarak karşılaştırılmıştır; çünkü belirgin genetik farklılıkları çoklu dizi hizalamasına dahil edilmesini engellemiştir. Elde edilen nükleotid benzerlik yüzdeleri Çizelge 4.7’de sunulmaktadır.

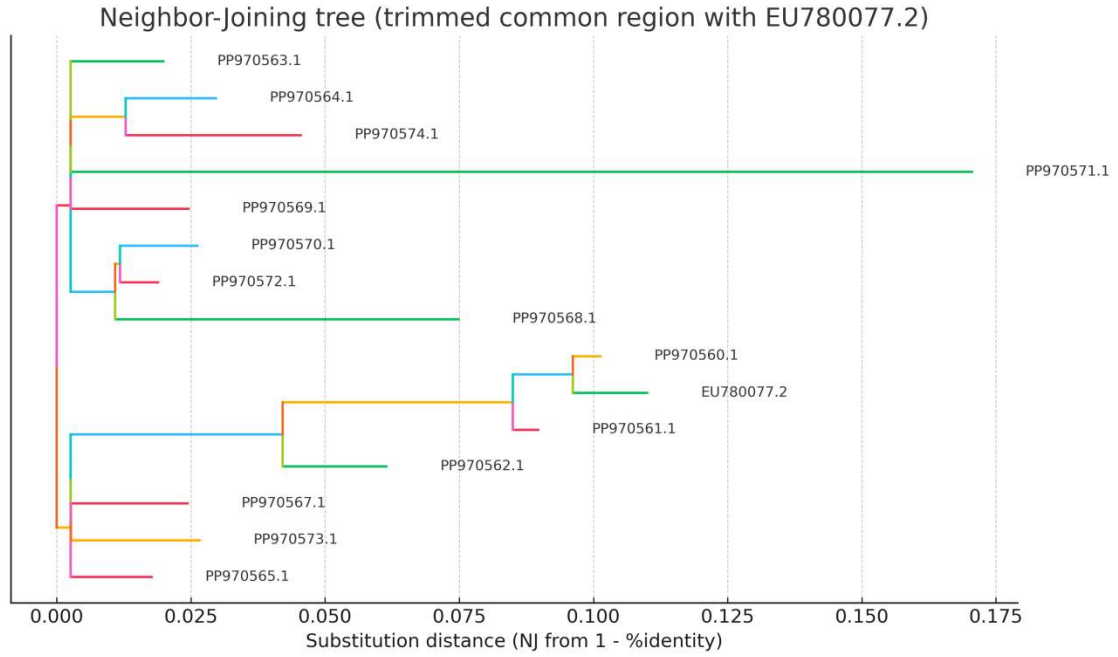
Çizelge 4.7. Yerel IBV izolatları ile İsrail referans suşu EU780077.2 (IS/1494/06) arasındaki ikili nükleotid dizi benzerliği (%) — S1 alt birim geninin (kısmi cds) BLAST analizi temel alınarak. EU780077.2 erişim numarası: 1598 bp uzunlu

Sorgu Kimliği (Query ID)	Sorgu Uzunluğu (bp)	E-değeri	Benzerlik %
PP970560.1	402	0.0	97.49%
PP970561.1	402	0.0	97.99%
PP970562.1	416	0.0	96.16%
PP970563.1	401	0.0	97.99%
PP970564.1	404	0.0	97.51%
PP970565.1	560	0.0	97.41%
PP970566.1	459	0.0	0.00%
PP970567.1	469	0.0	97.58%
PP970568.1	409	3e-169	93.37%
PP970569.1	435	0.0	98.15%
PP970570.1	388	0.0	98.04%
PP970571.1	350	8e-100	87.71%
PP970572.1	421	1e-168	98.47%
PP970573.1	355	2e-179	98.02%
PP970574.1	356	0.0	98.30%

İsrail varyantı IS/1494/06 (EU780077.2), saha izolatlarıyla belirgin genetik farklılıklar göstermesi nedeniyle çoklu dizi hizalaması ve filogenetik rekonstrüksiyona dahil edilmemiştir. Bu farklılıkların dahil edilmesi, hizalama kalitesini ve ağaç topolojisini bozabileceğinden dışarıda

bırakılmıştır. Bununla birlikte, genel nükleotid benzerliğini değerlendirmek amacıyla ikili BLAST analizi yapılmıştır. Çizelge 4.7’de sunulan sonuçlar, evrimsel uzaklığa rağmen nispeten yüksek benzerlik değerleri göstermiştir. Bu görünen çelişki, BLAST’ın yalnızca dizi hizalamasına dayalı olarak ikili nükleotid benzerliğini hesaplamasından kaynaklanmaktadır; BLAST evrimsel yolları veya mutasyonların gen boyunca dağılımını dikkate almaz. Buna karşılık, filogenetik kümelenme genel genetik mesafeye ve özellikle S1 glikoproteininin hipervaryabl bölgeleri gibi antijenite veya viral adaptasyon açısından kritik bölgelerdeki mutasyonların türü ve konumuna bağlıdır (**Hall ve ark., 2013; Feng ve ark., 2014**). Bu nedenle, küçük fakat stratejik olarak konumlanmış nükleotid değişiklikleri, genel olarak yüksek dizi benzerliğine rağmen izolatları farklı dallara yerleştirebilir. Bu çalışmada gözlemlenen desen, saha izolatları ile İsrail varyantının ayrı evrimsel soylar izlediğini, tespit edilen dizi benzerliğinin ise muhtemelen yakın ortak atadan ziyade korunmuş genomik bölgeleri yansıttığını göstermektedir.

Çizelge 4.7’de görüldüğü üzere, on beş saha izolatının on dördü IS/1494/06-benzeri (varyant 2) suşu ile yüksek nükleotid benzerliği (%87–98,5) göstermiştir. Bu durum, güçlü bir genetik akrabalığa işaret etmekte ve söz konusu izolatların muhtemelen aynı evrimsel kökene sahip olduklarını veya aynı genotipik soy içerisinde yer aldıklarını düşündürmektedir (**Meir ve ark., 2010**). Buna karşılık, bir izolat İsrail referans suşu ile karşılaştırıldığında BLAST analizinde %0 benzerlik göstermiştir. Bu benzerliğin tespit edilememesi, izolatın genetik olarak farklı bir soyu temsil edebileceğini ve muhtemelen sahada dolaşan farklı bir genotip ya da varyanta ait olduğunu düşündürmektedir. Böyle bir farklılık, dış kaynaklardan yeni bir suşun girişi, yerel seçilim baskıları altında uzun süreli bağımsız evrim ya da analiz edilen genomik bölgede geniş çaplı dizi varyasyonu nedeniyle anlamlı hizalamanın gerçekleşememesi sonucu ortaya çıkmış olabilir (**Jackwood ve ark., 2017**). Bu dikkat çekici bulgu, bölgede dolaşan AvCoV’lerin genetik çeşitliliğini vurgulamakta ve farklı genetik imzalara sahip yeni varyantların tespit edilebilmesi için sürekli moleküler surveyansın önemini ortaya koymaktadır.



Şekil 4.10. Saha izolatları ile İsrail suşu (EU780077.2) arasındaki S1 geninin ortak kısaltılmış bölgesine dayalı Neighbor-Joining filogenetik ağacı (ikili kimlik mesafeleri kullanılarak oluşturulmuştur).

Kısaltılmış S1 gen bölgesinden oluşturulan Neighbor-Joining filogenetik ağacı, bu çalışmada elde edilen saha izolatları ile İsrail suşu EU780077.2 arasındaki genetik ilişkileri (alt kümeleri) göstermektedir. BLAST analizinde saha izolatları ile EU780077.2 arasında %87,71 ile %98,47 arasında değişen yüksek ikili benzerlik değerleri saptanmasına rağmen, filogenetik ağaç topolojisi saha izolatlarının büyük çoğunluğunun İsrail suşundan ayrı dallar oluşturduğunu ortaya koymuştur. Bu uyumsuzluk, dizi benzerliği ile filogenetik akrabalık arasındaki temel farklılıktan kaynaklanmaktadır: BLAST yalnızca hizalanan bölgelerdeki ikili nükleotid benzerliğini hesaplamakta, oysa filogenetik kümelendirme genel genetik mesafe ve mutasyonların dizilim boyunca dağılımından etkilenmektedir (Smith ve ark., 2016; Cantarel, 2006). Dolayısıyla yüksek BLAST benzerliği, doğrudan filogenetik kümelendirmeyi garanti etmemektedir.

Elde edilen bulgular, saha izolatlarının S1 geninde korunmuş bölgeler paylaşmasına rağmen EU780077.2'den ayrı evrimsel yollardan ilerlediğini göstermektedir. Bazı izolatların İsrail suşuna nispeten daha yakın konumlanması, kısmi genetik korunumu veya ortak ataya ait dizilerin paylaşılmasına işaret edebilir. Ancak genel filogenetik ayrışma, saha izolatlarının genetik olarak farklı varyantlar olduğunu ve yerel epidemiyolojik ya da ekolojik koşullara uyum sağlamış olabileceğini göstermektedir (Valastro ve ark., 2016; Jackwood ve ark., 2017).

Bu çalışmada incelenen kısmi S1 gen dizilerinde gözlenen yüksek farklılaşma ve GenBank'tan elde edilen diğer kısmi S1 gen dizileriyle uzak akrabalık ilişkileri iki önemli hususu ortaya koymaktadır: (i) AvCoV'lerin yüksek mutasyon potansiyeli ve (ii) AvCoV popülasyonlarının evrimsel dinamikleri. Bu iki özellik, sürekli olarak yeni suşların ortaya çıkmasına yol açmakta ve

kanatlı sektöründe ciddi sağlık ve ekonomik sonuçları azaltabilmek için sıkı kontrol önlemlerinin alınmasını zorunlu kılmaktadır. AvCoV'lerin yüksek mutasyon kapasitesi esas olarak RNA'ya bağımlı RNA polimerazın yüksek hata oranından (Durães-Carvalho ve ark., 2015) ve S1 genindeki varyasyonlardan (**Khataby ve ark., 2020**) kaynaklanmaktadır.

İsrail varyantı IS/1494/06 (EU780077.2), GI-23 soyuna ait olup Türkiye ve komşu ülkelerde yaygın olarak bildirilmiştir. Türkiye'de yapılan çeşitli çalışmalarda bu suşla yüksek nükleotid benzerliği ve yakın filogenetik kümelenme gösteren izolatlar tespit edilmiştir. Örneğin **Kahya ve ark. (2013)**, Türk broyler ve damızlık sürülerinde IS/1494/06-ilişkili izolatları %99'a kadar nükleotid benzerliğiyle tanımlamış ve aynı soy içinde kümelendiklerini rapor etmiştir. Benzer şekilde, **Yılmaz ve ark. (2016)** hem aşı kaynaklı (Massachusetts tipi) hem de IS/1494/06-benzeri virüslerin Türkiye'de dolaştığını ve GI-23'ün yerel popülasyonda yerleştiğini göstermiştir. Daha yakın zamanda **Öngör ve ark. (2021)**, genetik farklılaşma olmasına rağmen Türk sürülerinde IS/1494/06-benzeri virüslerin varlığını doğrulamıştır.

Bu bulguların aksine, mevcut çalışmadaki saha izolatları IS/1494/06 ile filogenetik kümelenme göstermemiştir. Çiftli BLAST analizleri nispeten yüksek nükleotid benzerliği ortaya koymasına rağmen (Çizelge 4.7), belirgin filogenetik uzaklık, izolatların farklı evrimsel rotalar izlediğini göstermektedir. BLAST analizinde görülen yüksek benzerlik ile filogenetik kümelenmenin olmaması arasındaki bu uyumsuzluk, BLAST'ın genel dizi benzerliğini ölçmesi fakat mutasyonların filogenetik dağılımını hesaba katmamasından kaynaklanmaktadır. Buna karşılık filogenetik ağaç topolojisi, özellikle S1 glikoproteininin hipervaryabl bölgelerinde meydana gelen mutasyonların şekillendirdiği evrimsel yolları yansıtmaktadır.

Mevcut izolatların IS/1494/06'dan ayrışması, GI-23 soyuna ait korunmuş genomik bölgeleri paylaşmakla birlikte farklı giriş olayları veya bölgeye özgü seçim baskıları nedeniyle bağımsız olarak evrimleşmiş, bölgeye uyum sağlamış IBV varyantlarının varlığına işaret edebilir. Bu bulgu, GI-23'ün Orta Doğu'da ortaya çıktığını ve Türkiye üzerinden Avrupa'ya yayıldığını, ancak coğrafi ve konakçıya bağlı faktörlere göre daha fazla çeşitlilik kazandığını gösteren küresel epidemiyolojik analizlerle uyumludur (**Houta ve ark., 2021; Lisowska ve ark., 2017; Mousavi ve ark., 2018**).

Türkiye'de yapılan bir çalışmada (**Müştak ve ark., 2022**), MN685771.1 suşunun, S1 geninin kısmi dizilerine göre İsrail varyantı EU780077.2\IBV\isolate_IS/1494/06 (Variant 2) ile %99 oranında benzerlik gösterdiği bildirilmiştir. Bu durum, AvCoV suşlarının İsrail gibi komşu coğrafi bölgeler arasında yayılım olasılığını desteklemektedir. Benzer şekilde, 2023 yılında Balıkesir'de yapılan başka bir çalışmada, en yaygın AvCoV varyantları OL981643.1 ve OL981644.1'in hem patojenik hem de atenüe 4/91 IBV suşları ile %99,35 ve %98,69 benzerlik göstererek İsrail 720-99 suşuna yakın olduğu bildirilmiştir (**Ardıçlı ve ark., 2023**).

Bununla birlikte, mevcut çalışmanın sonuçları, 2014–2015 yılları arasında Irak'ta yapılan bir araştırma ile tam uyum göstermemektedir. Söz konusu çalışmada 32 AvCoV varyantı dört genotipe/gruba ayrılmıştır: Grup I, 15 saha izolatı (%46,87) içeren IS/1494-benzeri virüsler (Variant

2); Grup II, 13 saha suşu (%40,62) içeren 793/B-benzeri virüsler; Grup III, üç saha suşu (%9,37) içeren QX-benzeri virüsler ve Grup IV, bir saha suşu (%3,12) içeren DY12-2-benzeri virüsler (**Seğer ve ark., 2016**).

IBV'nin sınıflandırılmasında anahtar rol oynayan S1 genine yönelik çalışmalar, Irak ve Türkiye'de tespit edilen bazı suşların yüksek düzeyde genetik benzerlik gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu özellikle Orta Doğu'da yaygın olan bazı genotipler için geçerlidir. Veterinary World dergisinde yayımlanan bir çalışmada (2020), Irak'taki izolatların GI-23 soyu (Variant 2) olarak bilinen İsrail suşu IS/1494/06 ile %98'e varan dizi benzerliği sergilediği rapor edilmiştir. Bu bulgu, virüsün Türkiye ve İran gibi komşu ülkelerde dolaşan suşlarla yakın akrabalığını göstermektedir (**Alhatami ve ark., 2020**).

Türkiye'de yapılan diğer bir çalışmada ise GI-23 (Variant 2) ve GI-19 (QX-benzeri) genotiplerinin varlığı bildirilmiş; bazı Türk izolatlarının Irak ve İran suşlarıyla güçlü genetik benzerlik gösterdiği, bunun da göçmen kuşlar, ticaret veya etkisiz aşılama gibi faktörlerle sınır ötesi dolaşıma işaret ettiği belirtilmiştir (**Yılmaz ve ark., 2016**).

Bu çalışmada analiz edilen kısmi S1 gen dizileri, 15 saha izolatından 14'ünün IS/1494/06-benzeri (Variant 2) virüslerle %87 ile %98,5 arasında benzerlik gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu sonuç, **Yılmaz ve ark. (2016)**'nın farklı bölgelerden topladığı 63 AvCoV izolatının %48,9'unun IS/1494/06-benzeri (Variant 2) virüslerle benzerlik gösterdiğini bildirdiği çalışmayla tam olarak örtüşmemektedir. Bu tür benzerlik oranlarındaki farklılıklar, izolatların farklı bölgelerden veya farklı kanatlı türlerinden toplanmış olmasından kaynaklanabilir.

Bununla birlikte, mevcut çalışmadaki AvCoV suşlarının GenBank veri tabanındaki küresel suşlarla olan uzak genetik ilişkisi, Türkiye'de endemik bir AvCoV havuzunun varlığını göstermektedir. Gelecekte yapılacak çalışmaların, Türkiye'nin farklı coğrafi bölgelerinden elde edilecek daha geniş örneklem büyüklüğüyle moleküler filogenetik analizleri kapsamı önerilmektedir. Ayrıca, baskın genotiplerin belirlenmesi amacıyla ileriye dönük genotiplendirme çalışmalarının yürütülmesi de önerilmektedir.

Serbest dolaşan tavukların ticari kümes hayvancılığı için ciddi bir tehdit oluşturduğu bilinmektedir. Ancak, bu tehdit sıkı biyogüvenlik önlemleri ve etkin ticari çiftlik yönetim uygulamaları ile büyük ölçüde azaltılabilir. **Pohjola ve ark. (2017)** tarafından da bildirildiği üzere, şu ana kadar ticari olmayan sürüler ile ticari sürüler arasında doğrudan bir hastalık bulaşma vakası doğrulanmamıştır. Bu durum, her iki üretim sisteminde de sağlam biyogüvenlik protokollerinin sürdürülmesinin önemini vurgulamaktadır.

Bu çalışmada elde edilen bulgular, köy tavukçuluğu sistemlerinde biyogüvenlik uygulamalarının genellikle yetersiz olduğunu ve bunun virüsün saha koşullarında kolaylıkla yayılmasına neden olabileceğini göstermektedir. Özellikle serbest dolaşım, yabani kuşlarla temas, kontrolsüz hayvan hareketleri, yem paylaşımı ve ekipman transferi gibi faktörler IBV'nin yatay bulaşmasını kolaylaştırmaktadır (**Hamilton-West ve ark., 2012; Alhaji ve Odetokun, 2011**).

Literatürde de belirtildiği üzere, düşük biyogüvenlik düzeyi enfeksiyöz hastalıkların kontrolünü güçleştirmekte ve bölgesel salgınların sürdürülmesine neden olmaktadır (**Conan ve ark., 2012; Maduka ve ark., 2016**). **FAO (2008) ve OIE (2021)** tarafından bildirilen bulgular da bu sonuçları desteklemekte; küçük ölçekli üretim birimlerinde basit ancak düzenli biyogüvenlik önlemlerinin (izolasyon, temizlik, dezenfeksiyon, personel kontrolü) uygulanmasının, IBV ve benzeri solunum yolu etkenlerinin yayılımını sınırlamak için en etkili stratejilerden biri olduğunu göstermektedir. Bu durum, özellikle köy tavukçuluğu gibi düşük kontrol düzeyine sahip üretim sistemlerinde sürekli farkındalık ve saha eğitiminin gerekliliğini vurgulamaktadır) **Tekelioğlu ve Al-Saedi; 2021**).

Bu çalışmadan elde edilen bulgular, Enfeksiyöz Bronşit Virüsü (IBV)'nin yalnızca ticari kanatlı işletmelerde değil, aynı zamanda serbest dolaşan köy tavukları arasında da yaygın olarak dolaştığını göstermektedir. Özellikle küçük ölçekli veya kırsal üretim birimlerinde IBV enfeksiyonlarının çoğunlukla subklinik seyirli olduğu, yani belirgin klinik belirtiler göstermeden devam ettiği anlaşılmıştır. Bu durum, köy tavuklarının virüs için önemli bir rezervuar rolü oynayabileceğini düşündürmektedir. Benzer şekilde, Senegal, Nijerya ve Burundi'de yürütülen saha araştırmalarında da serbest dolaşan tavuk popülasyonlarında IBV'nin yüksek oranda dolaştığı bildirilmiştir (**Owoade ve ark., 2006; Emikpe ve ark., 2010; Ntirandekura, 2011**).

Afrika kıtasında IBV ile ilgili bildirilen veriler oldukça sınırlıdır. Örneğin, Fas'ta 1982–1983 yıllarında (El Houadfi ve Jones, 1985), Mısır'da 2003 yılında (**Abdel-Moneim ve ark., 2006**) ve Nijerya'da 2006–2007 yıllarında (**Ducatez ve ark., 2009**) birkaç vaka bildirilmiştir. Ancak bu sınırlı raporlar, virüsün yokluğunu değil, aksine epidemiyolojik gözetim eksikliğini ve kırsal popülasyonlarda yeterli tarama çalışmalarının yapılmadığını göstermektedir. Bu durum, IBV'nin Afrika ve benzeri ekosistemlerdeki kanatlı popülasyonlarında gerçek yayılımını anlayabilmek için sürekli izleme ve moleküler düzeyde analizlerin gerekliliğini vurgulamaktadır.

Enfeksiyöz bronşit üzerine yapılan önceki araştırmalar genellikle ticari sürülere odaklanmıştır; ancak kırsal bölgelerdeki serbest dolaşan tavuklar, virüsün evrimi ve yeni varyantların ortaya çıkışı açısından önemli bir kaynaktır. Bu hayvanlar, düşük biyogüvenlik koşulları altında, düzensiz aşılama uygulamaları ile yetiştirildiğinden, IBV'nin fark edilmeden yayılmasına ve genetik çeşitliliğin artmasına katkıda bulunmaktadır (**Munir ve ark., 2012**). **Dimitrov ve ark. (2016) ve OIE (2021)** raporları da, bu tür popülasyonlarda yürütülen moleküler gözetim eksikliklerinin, etkili kontrol ve aşılama stratejilerinin geliştirilmesini güçleştirdiğini vurgulamıştır.

Serbest dolaşan köy tavukları, çeşitli epidemiyolojik çalışmalarda da belirtildiği üzere, kanatlı hastalıkları için doğal rezervuarlar olarak kabul edilmektedir. Bununla birlikte, bu sürülerde biyogüvenlik önlemlerinin sınırlı olması, enfeksiyonların sessiz yayılımına (subklinik enfeksiyon) ve bölgesel salgınlara karşı duyarlılığın artmasına neden olmaktadır. Son yıllarda bu tür yetiştiricilik artış göstermiş olsa da, bu popülasyonların sağlık durumu ve taşıdıkları viral çeşitlilik hâlen yeterince araştırılmamıştır (**Kouakou ve ark., 2015**).

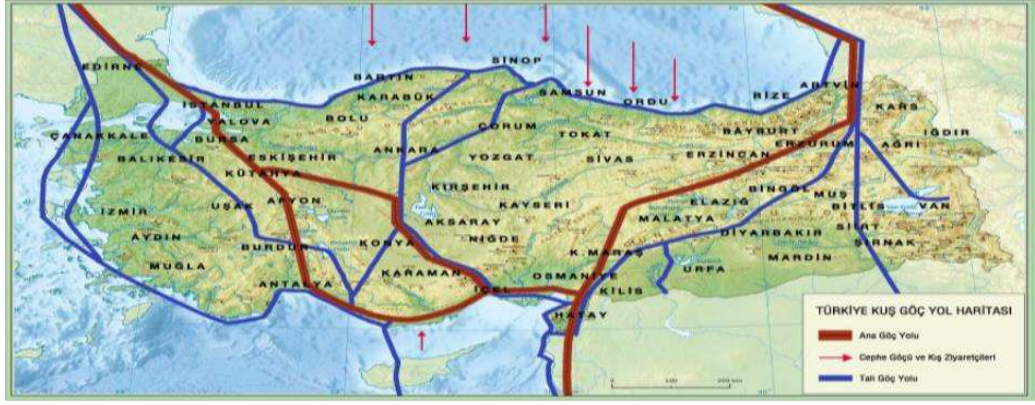
Bu çalışmanın bulguları ayrıca, farklı bölgelerde IBV pozitiflik oranlarının değişkenlik gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu farklılıklar; çevresel, ekolojik, coğrafi ve metodolojik birçok faktörün etkileşimiyle açıklanabilir.

İklimsel ve çevresel faktörler:

1. Sıcaklık, nem oranı, rüzgâr hızı ve havalandırma koşulları, virüsün çevresel stabilitesi üzerinde doğrudan etkilidir. Ilıman ve nemli iklimlerde virüs daha uzun süre canlı kalabilir ve bu da pozitiflik oranlarını artırabilir (**Zhao ve ark., 2023**).
2. Üretim yoğunluğu ve mekânsal yapı: Kümeslerin mekânsal yoğunluğu, IBV'nin yatay bulaşma olasılığını belirleyen en önemli faktörlerden biridir. Filodinamik analizler, yüksek yoğunluklu bölgelerde IBV'nin daha hızlı yayıldığını göstermektedir (**Franzo ve ark., 2020; Campler ve ark., 2024**).
3. Kuş göç yolları: Türkiye, Afro-Avrasya ve Orta Asya kuş göç yollarının kesişim noktasında yer almaktadır. Göçmen kuşlar, farklı bölgelerdeki IBV varyantlarını taşıyarak virüsün yeniden dolaşımına neden olabilir. Özellikle GI-23 (IS/1494/06) varyantının Ortadoğu-Türkiye hattındaki dolaşımı bu olasılığı desteklemektedir (**Houta ve ark., 2021; Rafique ve ark., 2024, Tekelioğlu, 2025**).

Kanatlı hayvan virüslerinin dünya genelindeki dolaşımı ve bulaşması başlıca iki yolla gerçekleşmektedir. İlk yolda kaz, ördek, kuğu ve flamingo gibi yabani su kuşları aracı rol oynamaktadır. Uzun mesafeler kat eden ve her yıl aynı göç rotalarını izleyen bu kuşlar, virüslerin geniş coğrafyalara yayılmasına önemli ölçüde katkı sağlamaktadır (**Tekelioğlu, 2025**). Türkiye Cumhuriyeti, coğrafi konumu itibarıyla dünyanın en önemli göçmen kuş uçuş rotalarından biri üzerinde yer almaktadır. İkinci bulaşma yolu ise geleneksel olarak canlı kanatlı hayvan ticaretinin yapıldığı hayvan pazarları ile yerel pazarlardır (**Greenfield, 2020**).

Dünya üzerinde dört ana kuş göç rotası bulunmaktadır ve bunlardan ikisi Türkiye sınırlarından geçmektedir. Kuşlar, havaların soğumasıyla birlikte kış aylarında göç etmeye başlarlar. Göçlerin temel nedeni, soğuk ve karlı havalarda yiyecek bulmanın güçleşmesidir. Kuş göçleri genellikle sonbahar aylarında kuzey yarımküreden güney yarımküreye doğru gerçekleşir. Kuşlar, Afrika-Avrupa ve Afrika-Asya olmak üzere iki ana göç rotasını yıl içerisinde iki kez kullanarak göç ederler (**Özkan, 2019; Turan, 2009**) (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. Türkiye Kuş Göç Yolları Haritası (Turan, 2009)

4. Arazi yapısı ve izolasyon: Dağlık veya izole bölgelerde sürüler arası temas az olduğundan bulaşma sınırlı kalabilirken, düz alanlarda veya ulaşım ağlarının yoğun olduğu yerlerde ekipman, yem veya iş gücü hareketleri virüsün yatay yayılımını kolaylaştırabilir.
5. Metodolojik etkenler: Örneklem zamanı ve kullanılan örnek türü (trakeal, kloakal veya sekal tonsil) sonuçları doğrudan etkiler. Enfeksiyonun erken döneminde trakeal örnekler pozitifken, geç dönemlerde kloakal dokularda virüsün daha uzun süre varlığını sürdürdüğü bildirilmiştir (Trevisol ve ark., 2023). Ayrıca örnek sayısının azlığı veya temsiliyetin yetersizliği “yalancı negatif” sonuçlara neden olabilir.
6. Genetik varyant farklılıkları: Saha suşları ile kullanılan aşı suşları arasındaki genetik uyumsuzluklar da pozitiflik farklarının nedenlerinden biridir. Özellikle GI-23 (Var2/IS-1494/06) genotipinin Türkiye ve çevresinde yaygın olarak tespit edilmesi, mevcut aşılarda bu varyanta karşı yeterli koruma sağlamadığını göstermektedir (Houta ve ark., 2021; Trevisol ve ark., 2023; Rafique ve ark., 2024).

Sonuç olarak, elde edilen bulgular; çevresel koşullar, üretim yoğunluğu, göçmen kuş hareketleri, arazi yapısı, örneklem stratejileri ve genetik varyant farklılıklarının birlikte IBV'nin saha dağılımını şekillendirdiğini göstermektedir. Bu durum, IBV'nin sürekli evrim geçiren ve çevresel faktörlere hızla uyum sağlayan bir virüs olduğunu desteklemektedir.



5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

- 1- Adana ilindeki kırsal kanatlı sürülerinden IBV'nin başarılı bir şekilde ilk izolasyonu, virüsün ticari olmayan üretim sistemlerinde dolaşmaya devam ettiğini göstermekte ve sonraki moleküler ve filogenetik analizler için kritik bir temel sağlamaktadır.
- 2- IBV saha izolatlarının moleküler karakterizasyonu ve filogenetik analizi, bazı izolatların kendi aralarında yüksek nükleotid benzerliği ($> \%95$) göstererek yakın ortak ataya ve lokal dolaşıma işaret ettiği, farklı genetik kümelerin varlığını ortaya koymuştur.
- 3- Bazı referans suşlarıyla yüksek BLAST benzerlik değerlerine rağmen, filogenetik ağaç çalışılan izolatların evrimsel olarak ayrıldığını göstermiştir. Bu durum, dizi benzerliğine dayalı analizlerle evrimsel mesafe temelli analizler arasındaki metodolojik farklılıkları vurgulamaktadır.
- 4- Yaygın olarak kullanılan aşı suşlarıyla (ör. Ma5, H120) kümelenmenin olmaması, dolaşımdaki saha suşları ile bölgede ticari olarak uygulanan aşılarda önemli genetik farklılık olduğunu göstermektedir.
- 5- Epidemiyolojik açıdan önemli referans suşlara (ör. IS/1494/06, İsrail-benzeri) düşük benzerlik gösteren genetik olarak farklı varyantların tespiti, mutasyon, rekombinasyon ve aşı kaynaklı seleksiyon baskısı ile yönlendirilen IBV'nin devam eden genetik evrimini ortaya koymaktadır.
- 6- Bulgular, IBV'nin karmaşık epidemiyolojik yapısını vurgulamakta ve mevcut aşılama stratejilerinin tüm dolaşımdaki genotiplere karşı optimal koruma sağlamayabileceğine işaret ettiği düşünülmektedir.

Çalışmanın sonuçları doğrultusunda gelecek araştırmalar için öneriler:

- 1- Hem serbest gezen ev tipi (arka bahçe) tavuk sürülerinden hem de ticari sürülerden yapılacak izolasyon çalışmalarının sürdürülmesi ve genişletilmesi, yeni varyantların erken tespiti ve araştırma ile aşı geliştirme için yerel olarak ilgili IBV suşlarının bir havuzunun oluşturulmasına katkı sağlayabilecektir.
- 2- Hem ticari hem de ev tipi (arka bahçe) kanatlı sistemlerinde IBV'nin genetik çeşitliliğini ve evrimsel dinamiklerini izlemek amacıyla sürekli moleküler sürveyans programlarının uygulanması.
- 3- Epidemiyolojik izleme için kullanılan IBV referans suş veri tabanının düzenli olarak güncellenmesi ve yerel olarak dolaşan ve sahada ortaya çıkan yeni genotiplerin dahil edilmesi.

- 4- Mevcut aşıların koruyucu kapasitesini değerlendirmek ve bölgeye özgü aşı formülasyonlarının geliştirilmesine rehberlik etmek için, yerel olarak yaygın IBV suşları kullanılarak aşı etkinliği denemelerinin yapılması.
- 5- Yeni veya farklı IBV varyantlarının yayılımını ve çiftlikler arası bulaşmasını en aza indirmek için çiftlik ve bölgesel düzeyde biyogüvenlik önlemlerinin güçlendirilmesi.
- 6- IBV'nin sürüler üzerindeki hastalık baskısı etkisini azaltmak için üreticilerin zamanında bildirim, uygun aşılama programları ve koruyucu yönetim uygulamaları konusunda eğitilmesinin teşvik edilmesi.



KAYNAKLAR

- Ababneh, M., Dalab, A., Alsaad, S., and Al-Zghoul, M., 2014, Presence of infectious bronchitis virus strain CK/CH/LDL/97I in the Middle East. *Poultry Science*, 93(10), 2642–2647.
- Ababneh, M., Dalab, A.E., Alsaad, S., Al-Zghoul, M. ve Al-Majali, A.M. 2014. Molecular epidemiology of infectious bronchitis virus in backyard flocks in Jordan, *Poultry Science*, 93(3), 484–490.
- Abdel-Moneim, A.S., El-Kady, M.F., Ladman, B.S., Gelb Jr., J., 2006. S1 gene sequence analysis of a nephropathogenic strain of avian infectious bronchitis virus in Egypt. *Virol. J.* 3(78).
- Aboe, P. A. T. , Boa-Amponsem, K. , Okantah, S. A. , Butler, E. A. , Dorward, P. T., and Bryant, M. J. 2006. “Free-range village chickens on the Accra Plains, Ghana: their husbandry and productivity,” *Tropical Animal Health and Production*, vol. 38(3), pp. 235– 248.
- Abozeid H.H., 2023, Global emergence of infectious bronchitis virus variants: evolution, immunity, and vaccination challenges. *Transbound Emerg Dis.* 1144924.
- Adebiyi, A. I., and Fagbohun, A. F., 2017, Infectious Bronchitis Virus in Captured Free-Living, Free-Range and Intensively Reared Birds in Southwest Nigeria. *Folia Veterinaria*, 61(1), 23–26.
- Adzhar, A. , Gough, R. E. , Haydon, D. , Shaw, K. , Britton, P. and Cavanagh, D., 1997 Molecular analysis of serotype 793/B infectious bronchitis virus in Great Britain, *Avian Pathology*, 26(3): 625–640.
- Al Saedi, R. Avci, Ç. ve Tekeleoğlu, B. K. , 2022, Yabancı kuşların Coronavirüsleri, 9. International Gap Summit Scientific Research Congress , 1-3 July 2022, Adıyaman, Türkiye, 558-562.
- AL Saedi, R. Tekeleoğlu, B. K. And Yanar, Y., 2021, Coronavirus Avian Infectious bronchitis virus (IBV); Review from the Covid-19 Perspective." *EJONS 11th International Congress*, January 30-31, Karak, Jordan .
- Albassam, M.A., Winterfield R.W., Thacker H.L., 1986. comparison of the nephropathogenicity of four strains of infectious bronchitis virus. *Avian Dis* 30: 468-476.
- Alders, R.G. and Spradbrow, P.B., 2001. Controlling Newcastle Disease in Village Chickens: A Field Manual. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR).
- Alexander, D. J., and Gough, R. E., 1977. Isolation of avian infectious bronchitis virus from experimentally infected chickens. *Res Vet Sci.*, 23, 344–347.
- Alhaji, N.B. and Odetokun, I.A., 2011. Assessment of biosecurity measures against highly pathogenic avian influenza risks in small-scale commercial farms and free-range poultry flocks in North-Central Nigeria. *Transboundary and Emerging Diseases*, 58(2), 157–161.
- Alhatami AO, Alaraji F, Abdulwahab HM, Khudhair YI. Sequencing and phylogenetic analysis of infectious bronchitis virus variant strain from an outbreak in egg-layer flocks in Baghdad, Iraq. *Vet World*. 2020 Jul;13(7):1358-1362.

- Al-Shekaili, T, Baylis, M, Ganapathy, K. 2015. Molecular detection of infectious bronchitis and avian metapneumoviruses in Oman backyard poultry. *Res Vet Sci.*, 99:46-52.
- Al-Shekaili, T., Al-Mahrouqi, S., Al-Kiyumi, F., Al-Kaabi, M., Ganapathy, K. ve Baylis, M. (2015) 'Molecular detection and characterization of infectious bronchitis virus in backyard chickens in Oman', *Veterinary World*, 8(3), 382–387.
- Alvarado, I. R., Villegas, P., El-Attrache, J., and Brown, T. P. 2003. Evaluation of the protection conferred by commercial vaccines against the California 99 isolate of infectious bronchitis virus. *Avian Dis.*, 47, 1298–1304.
- Ardıçlı Ö, Serim Kanar T, Kahya Demirbilek S, Özdemir A, Erdoğan S, Coşkun AG, Carlı KT (2023): Concurrent infection of Infectious Bronchitis Virus and *Mycoplasma gallisepticum* in a backyard poultry. *J.Vet*, Ankara.edu.tr/en:1-8.
- Ardıçlı Ö; Demirbilek S. K.; Çöven, F. and Carlı K.T., 2022, A surveillance for avian coronavirus infectious bronchitis virus, infectious laryngotracheitis virus, avian metapneumovirus, and avian reovirus in poultry flocks with respiratory signs in Türkiye," *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 46: (5) Article 3.
- Avornyo, F. K. , Salifu, S. , Panyan E. K. ve ark., 2016. Characteristics of guinea fowl production systems in northern Ghana. A baseline study of 20 districts in northern Ghana, *Livestock Research for Rural Development*, 28(8), 134.
- Awad, F., Baylis, M., and Ganapathy, K., 2016, Detection of variant infectious bronchitis viruses in chickens in the Middle East by reverse transcription polymerase chain reaction and sequencing. *Avian Pathology*, 45(4), 356–368.
- Awad, F., Baylis, M., Ganapathy, K., Jones, R.C. and Worthington, K.J., 2016. Co-circulation of multiple infectious bronchitis virus genotypes and their cross-protection in the Middle East. *Avian Pathology*, 45(3), 346–357.
- Awad, F., Chhabra, R., Baylis, M., and Ganapathy, K., 2014. An overview of infectious bronchitis virus in chickens. *World's Poultry Science Journal*, 70: 375-384.
- Awad, F., Forrester, A., Baylis, M. ve Ganapathy, K. (2016) 'Detection and characterization of infectious bronchitis virus strains circulating in the Middle East', *Veterinary Microbiology*, 187, 59–65.
- Bande, F., Arshad, S. S., Omar, A. R., Hair-Bejo, M., Mahmuda, A., & Nair, V., 2017. Global distributions and strain diversity of avian infectious bronchitis virus: A review. *Animal Health Research Review*, 18, 70–83.
- Bande, F., Arshad, S.S., Omar, A.R., Hair-Bejo, M., Mahmuda, A. and Nair, V., 2017. Global distributions and strain diversity of avian infectious bronchitis virus: A review. *Veterinary Microbiology*, 208, 1–13.
- Bassam RH, Hussein HA, Amer MM, ve ark (2019): Molecular characterization of VAR2 among IBV Infected poultry in Lebanon. *J Virol Sci*, 5, 114-123.

- Batista, I.A., Hoepers, P.G., Silva, M.F.B., Nunes, P.L.F., Diniz D.C.A., Freitas, A.G., Cossi, M.V.C., Fonseca, B.B., 2020 .Circulation of Major Respiratory Pathogens in Backyard Poultry and their Association with Clinical Disease and Biosecurity . Brazilian Journal of Poultry Science.
- Bavinck, V., Bouma, A., van Boven, M., Bos, M.E.H., Stassen, E. and Stegeman, J.A., 2009. The role of backyard poultry flocks in the epidemic of highly pathogenic avian influenza virus (H7N7) in The Netherlands in 2003. Preventive Veterinary Medicine, 88(4), pp.247-254.
- Bayry, J., Goudar, M. S., Nighot, P. K., Kshirsagar, S. G., Ladman, B. S., Gelb Jr, J., and Kapur, V., 2005, Emergence of a nephropathogenic avian infectious bronchitis virus with a novel genotype in India. Journal of Clinical Microbiology, 43(2), 916–920.
- Bayry, J., Goudar, M.S., Nighot, P.K., Kshirsagar, S.G., Ladman, B.S., Gelb, J. ve Kolte, G.N. (2005) ‘Emergence of multiple genotypes of infectious bronchitis virus in the Middle East’, *Avian Pathology*, 34(1), 25–31.
- Berhanu, N., Hirpa, E., Mohammed, H. *ve ark*, 2025, Isolation, molecular identification, and phylogenetic analysis of infectious bronchitis virus from commercial chicken farms in Mekele and Bishoftu, Ethiopia, 2023–2024. *Virol J*. 22, 90.
- Boko, C. K. , Kpodekon, M. T. , Farougou, S. *ve ark*, 2011. Farmer perceptions and pathological constraints in helmeted guinea fowl farming in the Borgou department in North-East Benin, *African Journal of Agricultural Research*, 6(10), 2348–2357.
- Boltz, DA, Nakai M., and Bahra J.M.. ,2004. avian infectious bronchitis virus: a possible cause of reduced fertility in the rooster. *Avian Dis* 48:909–915
- Butcher, G. and Yegani, M., 2008. Biosecurity for the Poultry Industry. Veterinary Medicine–Large Animal Clinical Sciences Department, Florida Cooperative Extension Service, University of Florida.
- Callison, S. A., Hilt, D. A., Boynton, T.O., Brenda F. S., Robert, R., David, E. S., Jackwood, M.W., 2006, Development and evaluation of a real-time TaqMan RT-PCR assay for the detection of infectious bronchitis virus. *Journal of Virological Methods*, 138(1–2), 60–65.
- Cantarel, B. L., 2006, Exploring the relationship between sequence similarity and phylogenetic reconstruction. *Molecular Biology and Evolution*, 23(11), 2090–2101.
- Capua, I., Dalla, P.M., Mutinelli, F., Marangon, S. and Terregino, C. ,2002. Mixtures of infectious bronchitis virus and *Escherichia coli*. *J Gen Virol* .66(4), 777-86.
- Cavanagh D, Davis PJ, Cook JKA (1992): Infectious bronchitis virus: evidence for recombination within the Massachusetts serotype. *Avian Pathol*, 21, 401-408.
- Cavanagh D, Naqi, N.A., 2003. infectious bronchitis. In: *Diseases of Poultry*. 11th ed. ed: Iowa State University Press, Ames, IA. pp. 101-119.

- Cavanagh, D, Ellis, M.M., Cook, J.K.A.,1997.Relationship between sequence variation in the S1 spike protein of infectious bronchitis virus and the extent of cross-protection in vivo. *Avian Pathol* 26(1), 63–74.
- Cavanagh, D. , 2005. Coronaviruses in poultry and other birds. *Avian Pathology: Journal of the W.V.P.A*, 34, 439-448.
- Cavanagh, D. ,1997. Nidovirales: a new order comprising Coronaviridae and Arteriviridae. *Archives of Virology*, 142, 629–633.
- Cavanagh, D. ,2003, Severe acute respiratory syndrome vaccine development: experiences of vaccination against avian infectious bronchitis coronavirus. *Avian Pathology*, 32(6), 567–582.
- Cavanagh, D. ,2007. Coronavirus avian infectious bronchitis virus. *Veterinary Research*, 38, 281-297.
- Cavanagh, D., 1983. coronavirus IBV: structural characterization of the spike protein. *J Gen Virol*.64,2577–83.
- Cavanagh, D., 2005. Coronaviruses in poultry and other birds. *Avian Pathology*, 34(6), 439–448.
- Cavanagh, D., Davis, P.J., and Mockett, A.P., 1988. amino acids within hypervariable region 1 of the spike glycoprotein of avian coronavirus IBV (Massachusetts serotype) are associated with neutralization epitopes. *Virus Res*. 11:141–50.
- Cavanagh, D., Gelb J. Jr, 2008. Infectious Bronchitis. In: Saif YM, Fadly AM, Glisson JR McDougald LR, Nolan LK, Swayne DE (eds) *Diseases of poultry*. Blackwell, Ames, pp 117–135.
- Ceva Poultry. (n.d.). Impact of Infectious Bronchitis Virus on poultry performance, respiratory, reproductive and renal systems \[Infographic\]. Ceva Santé Animale. Available at: (<https://poultry.ceva.com/poultry-vaccines/ibird>).
- Chu,D.K., Leung,C.Y., Gilbert,M., Joyner,P. H. , Ng, E. M. ; Tse, T. M., Guan,Y., Peiris,J.S., and Poon, L. L., 2011.Avian coronavirus in wild waterfowl. *Journal of Virology* 85, 12815-12820.
- Conan, A., Goutard, F.L., Sorn, S. and Vong, S., 2012. Biosecurity measures for backyard poultry in developing countries: A systematic review. *BMC Veterinary Research*, 8, 240.
- Cook, J. K. A., Jackwood, M., and Jones, R. C., 2012. The long view: 40 years of infectious bronchitis research. *Avian Pathology*, 41, 239–250.
- CSHB (Canadian Swine Health Board), 2010. National Swine Farm-Level Biosecurity Standard. Technical Committee on Biosecurity, Canada.
- Dahouda, M. , Toleba, S. S. , Youssao, A. K. I. *ve ark.*,2007. constraints in guinea fowl rearing and flock composition under traditional management in Borgou Department, Benin, 17 (1 and 2),3- 14, *Family Poultry*.

- De Wit J.J. (Sjaak), Jane, K., and Cook, A., 2014. Factors influencing the outcome of infectious bronchitis vaccination and challenge experiments (Review article), 43: 6.
- De Wit J.J., *ve ark.*, 2021, Infectious bronchitis virus variants: a review of the emergence and control of variant strains. *Avian Pathology*, 50(6), 563–581.
- De Wit, J., 2000. Detection of infectious bronchitis virus. *Avian Pathol* 29(2), 71–93.
- De Wit, J.J., Cazaban, C., Dijkman, R., Ramon, G. and Gardin, Y., 2014. Detection of infectious bronchitis virus strain persistence in tissues: a study on tissue tropism and pathogenesis. *Avian Pathology*, 43(5), 453–462.
- Derksen T, Lampron R, Hauck R, Pitesky M, Gallardo RA., 2018. Biosecurity assessment and seroprevalence of respiratory diseases in backyard poultry flocks located close to and far from commercial premises. *Avian Diseases* .62:1–5.
- Dhama, K., Singh, S. D., Barathidasan, R., Desingu, P. A., Chakraborty, S., Tiwari, R., and Kumar, M. A. (2014). Emergence of avian infectious bronchitis virus and its variants need better diagnosis, prevention, and control strategies: a global perspective. *Pak J Biol Sci*, 17, 751–767.
- Dimitrov, K. M., *ve ark.* , 2016, Backyard poultry: a significant reservoir of respiratory pathogens with zoonotic potential. *Avian Diseases*, 60(4), 676–683.
- Dimitrov, K.M., Abolnik, C., Afonso, C.L., Miller, P.J. and Lynch, S.E., 2016. Surveillance and molecular characterization of avian coronaviruses in low-biosecurity systems. *Avian Pathology*, 45(3), 276–288.
- Dolz, R., Pujols, J., Ordóñez, G., Porta, R., and Majó, N. ,2008. Molecular epidemiology and evolution of avian infectious bronchitis virus in Spain over a fourteen-year period. *Virology*, 374, 50-59.
- Ducatez, M.F., Martin, A.M., Owoade, A.A., Olatoye, I.O., Alkali, B.R., Maikano, I., Snoeck, C.J., Sausy, A., Cordioli, P., Muller, C.P., 2009. Characterisation of a new genotype and serotype of infectious bronchitis virus in Western Africa. *J. Gen. Virol.* 90, 2679–2685.
- Durães-Carvalho R., Leonardo C. Caserta, Ana C.S. Barnabé, Matheus C. Martini, Paulo V.M. Simas, Márcia M.B. Santos, Marco Salemi, Clarice W. Arns, 2015, Phylogenetic and phylogeographic mapping of the avian coronavirus spike protein-encoding gene in wild and synanthropic birds, *Virus Research*, 201, Pp, 101-112.
- Echeverría, N., Moratorio, G., Cristina, J., and Moreno, P., 2015. Hepatitis C virus genetic variability and evolution. *World Journal of Hepatology*, 7, 831–845.
- El Houadfi, M., Jones, R.C., 1985. Isolation of avian infectious bronchitis viruses in Morocco including an enterotropic variant. *Vet. Rec.* 116, 445.
- Ellis, S., Keep, S., Britton, P., de Wit, S., Bickerton, E., Vervelde, L. 2018. Recombinant infectious bronchitis viruses expressing chimeric spike glycoproteins induce partial protective

- immunity against homologous challenge despite limited replication in vivo. *Journal of Virology*, 92, e01473-18.
- Elson, H.A. and Croxall, R.A., 2006. European farm management and welfare of laying hens in conventional cages and alternative systems. *World's Poultry Science Journal*, 62(3), 447–456.
- Eltholth, M., Mohamed, R., Elgohary, F. and Elfadl, E., 2016. Assessment of biosecurity practices in broiler chicken farms in Gharbia Governorate, Egypt. *Alexandria Journal of Veterinary Sciences*, 49(1), 68–77.
- El-Yuguda, A. D., Ngulde, I. S., Abubakar, M. B. and Baba, S. S. ,2007. Village chicken health, management and production indices in selected villages of Borno State, Nigeria, vol. 17 (1 and 2), 41-48, *Family poultry*.
- Emekpe, B.O., Ohore, O.G., Oluwole, O.E., Olawuyi, A.K. ve Abioja, M.O. (2010) ‘Seroprevalence of infectious bronchitis virus antibodies in local chickens in Nigeria’, *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9(3), 678–680.
- Emikpe, B.O., Ohore, O.G., Olujonwo, M., Akpavie, S.O., 2010. Prevalence of antibodies to infectious bronchitis virus (IBV) in chickens in southwestern Nigeria. *Afr. J. Microbiol. Res.* 4,1, 92–95.
- Fabricant, J., 1998. the early history of infectious bronchitis. *Avian Diseases* .42:648-50.
- FAO, 2008. Biosecurity for Highly Pathogenic Avian Influenza: Issues and Options. FAO Animal Production and Health Paper No. 165, Rome.
- FAO, 2019. Small-Scale Poultry Production: Technical Guide. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Fellahi, S., EL Harrak, M. , Ducatez, M. , Loutfi, C. , Ibn Souda Koraichi, S. , Jens, H. Kuhn; Khayi ,S. , EL Houadfi , M., and Ennaji, M. M., 2015. Phylogenetic analysis of avian infectious bronchitis virus S1 glycoprotein regions reveals emergence of a new genotype in Moroccan broiler chicken flocks. *Virology Journal* .12:116.
- Feng, K., Xue, G., Wang, F., Chen, F., Shu, D., Xie, Q., and Bi, Y., 2014, Epidemiology and characterization of avian infectious bronchitis virus strains circulating in southern China during the period from 2011–2012. *Scientific Reports*, 4, 1–9.
- Fischer S, Klosterhalfen D, Kump FWS, ve ark ,2020, Research note: First evidence of infectious bronchitis virus Middle-East GI-23 lineage (Var2-like) in Germany. *Poult Sci*, 99, 797-800.
- Franzo, G., Legnardi, M., Tucciarone, C.M., Drigo, M., Martini, M., Cecchinato, M. and Listorti, V., 2020. Phylodynamic analysis and evaluation of the balance between anthropic and environmental factors affecting IBV spreading among Italian poultry farms. *Scientific Reports*, 10, 7289.
- Franzo, G., Tucciarone, C. M., Moreno, A., Legnardi, M., Massi, P., Tosi, G., Trogu, T., Ceruti, R., Pesente, P., Ortali, G., ve ark. ,2020. Phylodynamic analysis and evaluation of the balance

- between anthropic and environmental factors affecting IBV spreading among Italian poultry farms. *Sci. Rep.*, 10, 7289.
- Gallardo, R.A., Da Silva AP, Mendoza-Reilley A, Alvarado I, Giroux C, *ve ark.*,2019. False layer syndrome caused by IBV, genetic characterization and pathobiology insights. American association of avian pathologists annual meeting, Washington DC, USA.
- Ganapathy, K. ,2009.Diagnosis of infectious bronchitis in chickens. In *Practise* 31: 424-431.
- Gelb, J., Jr, Rosenberger, J. K., Fries, P. A., Cloud, S. S., Odor, E. M., Dohms, J. E., and Jaeger, J. S. (1989). Protection afforded infectious bronchitis virus-vaccinated sentinel chickens raised in a commercial environment. *Avian Dis.*, 33, 764–769.
- Ghorbani, Y., Nwaila, G. T., Zhang, S. E., Hay, M. P., Bam, L. C., & Guntoro, P. I. ,2020, Repurposing legacy metallurgical data Part I: A move toward dry laboratories and data bank. *Minerals Engineering*, 159, 106646.
- Greenfield, P. 2020. Ban wildlife markets to avert pandemics, says UN biodiversity chief. *The Guardian*. ISSN 0261-3077. (12.10.2024 tarihinde <https://www.theguardian.com/world/2020/apr/06/ban-live-animal-markets-pandemics-un-biodiversity-chief-age-of-extinction> adresinden ulaşılmıştır).
- Grellet, E., L'Hôte, I., Goulet, A., Imbert, I.,2022. replication of the coronavirus genome: a paradox among positive-strand RNA viruses. *J. Biol. Chem.*,298, 101923.
- Gyening, K. O., 2006, The future of the poultry industry in Ghana,” paper prepared for the Ghana Veterinary Medical Association, p. 7.
- Hall, B. G., 2013, Building phylogenetic trees from molecular data with MEGA. *Molecular Biology and Evolution*, 30(5), 1229–1235.
- Hamilton-West, C., Rojas, H., Pinto, J., Orozco, J., Hervé-Claude, L.P. and Urcelay, S., 2012. Characterization of backyard poultry production systems and disease risk in the central zone of Chile. *Research in Veterinary Science*, 93(1), 121–124.
- Harvey, S.A., Winch, P.J., Leontsini, E., Torres Gayoso, C., Lopez Romero, S., Gilman, R.H. and Oberhelman, R.A., 2003. Domestic poultry-raising practices in a Peruvian shantytown: implications for control of *Campylobacter jejuni*-associated diarrhea. *Acta Tropica*, 86(1), 41–54.
- Hauck, R., Gallardo, R.A., Woolcock, P.R., Shivaprasad, H.,2016. a corona-virus associated with running stunting syndrome in broiler chickens. *Avian Dis* 60, 528-534.
- Heid, C., Stevens,A., J, Livak, K. J., Williams, P. M, 1996, Real time quantitative PCR. *Genome Research*, 6(10), 986–994.
- Hesse, M., 2015. Characterization of the binding properties of theAvian Coronavirus spike protein
 THESIS Submitted in partial fulfilment of the requirements for the degree -Doctor of Philosophy- (PhD) awarded by the University of Veterinary Medicine Hannover /Hannover /Germany.

- Houta, M.H., Awad, F., El-Deeb, A., Hagag, N., Zanyat, A.M., Arafa, A.-S. and El-Kady, M.F., 2021. Phylodynamic and recombination analyses of avian infectious bronchitis virus. *Poultry Science*, 100(12), 101473.
- Ignjatovic, J., & Sapats, S., 2000. Avian infectious bronchitis virus. *Revue Scientifique et Technique* (International Office of Epizootics), 19, 493–508.
- Jackwood, M.W., Hall, D., and Handel, A. 2012. molecular evolution and emergence of avian gammacoronaviruses. *Infect Genet Evol* 12,1305-1311.
- Jackwood A.R., Cook, J.K., M., and Jones, C., 2012. the long view: 40 years of infectious bronchitis research. *Avian pathology : journal of the W.V.P.A* 41, 239-250.
- Jackwood, M. W., 2012. Review of infectious bronchitis virus around the world. *Avian Diseases*, 56, 634–641.
- Jackwood, M. W., and Lee, D. H., 2017, Different evolutionary trajectories of vaccine controlled and non-controlled avian infectious bronchitis viruses in commercial poultry. *PLoS One*, 12(5), e0176709.
- Jackwood, M. W., Hilt, D. A., Brown, T. P., 2003. Attenuation, safety, and efficacy of an infectious bronchitis virus GA98 serotype vaccine. *Avian Diseases*, 47, 627–632.
- Jackwood, M. W., Hilt, D. A., McCall, A. W., Polizzi, C. N., McKinley, E. T., and Williams, S. M., 2009. Infectious bronchitis virus field vaccination coverage and persistence of Arkansas-type viruses in commercial broilers. *Avian Diseases*, 53, 175–183.
- Jones, R. C., and Ambali, A. G., 1987. Re-excretion of an enterotropic infectious bronchitis virus by hens at the point of lay after experimental infection at day old. *Vet Rec.*, 120, 617–618.
- Jones, R.C., 2010a. Europe: history, current situation and control measures for infectious bronchitis. *Brazilian Journal of Poultry Science* 12: 125-128.
- Jordan, B. (2017) *Avian Infectious Bronchitis*. 1st edn. Cham: Springer International Publishing.
- Jordan, B., 2017, Vaccination against infectious bronchitis virus: A continuous challenge. *Veterinary Microbiology*, 206, 137–143.
- Kahya S, Coven F, Temelli S, *ve ark*, 2013, Presence of IS/1494/06 genotype related infectious bronchitis virus in breeder and broiler flocks in Türkiye. *Ankara Univ Vet Fak Derg*, 60, 27-31.
- Kahya, S., Oğuz, D., Eltan, E., Temelli, S., Şevik, M., Başaran, E. and Yılmaz, A., 2013. Molecular characterization of infectious bronchitis virus strains in Turkey. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 60(2), 117–122.
- Kahya, S., Yavru, S., Temelli, S., Carli, K.T., Eyigör, A. ve Özkul, A. (2013) ‘Molecular characterization of field isolates of infectious bronchitis virus in Turkey’, *Avian Diseases*, 57(2), 387–393.

- Kant, A, Koch, G., van Roozelaar, D.J., Kusters, J.G., Poelwijk, F.A., van der Zeijst B.A., 1992. Location of antigenic sites defined by neutralizing monoclonal antibodies on the S1 avian infectious bronchitis virus glycopolyptide. *J Gen Virol.*(73):591–6.
- Karabozhilova, I., Wieland, B., Alonso, S., Salonen, L. and Haesler, B. , 2012. backyard rearing of chickens in Greater London: welfare status, biosecurity issues and disease control. *British Poultry Science*, 53, 421–430.
- Kataria, J. M., Mohan, C. M., Dey, S., Dash, B. B., and Dhama, K. ,2005. Diagnosis and immunoprophylaxis of economically important poultry diseases: a review. *Indian Journal of Animal Science*, 75, 555–567.
- Khataby K, Kasmi Y, Souiri A, Loutfi C, Ennaji MM.,2020, Avian Coronavirus: Case of Infectious Bronchitis Virus Pathogenesis, Diagnostic Approaches, and Phylogenetic Relationship Among Emerging Strains in Middle East and North Africa Regions. *Emerging and Reemerging Viral Pathogens*,729–744.
- Khataby, K., Souiri, A., Kasmi, Y., Loutfi, C., and Ennaji, M. M. (2016). Current situation, genetic relationship, and control measures of infectious bronchitis virus variants circulating in African regions. *Journal of Basic and Applied Zoology*, 76, 20–30.
- Kim HR, Oem JK ,2014, Surveillance of avian coronaviruses in wild bird populations of Korea. *J Wildl Dis*, 50, 964–968.
- Kleven, S.H., King, D.D., and Anderson, D.P., 1972. Air sac inflammation in broiler chickens caused by *Mycoplasma synoviae*: effects of infectious bronchitis or Newcastle disease vaccines on air sac lesions. *Avian Diseases* ,16:915-24.
- Kouakou, A.V., Kouakou, V., Kouakou, C., Godji, P., Kouassi, A.L., Krou, H.A., Langeois, Q., and Webby, R.J., 2015. Prevalence of Newcastle disease virus and infectious bronchitis virus in avian influenza negative birds from live bird markets and backyard and commercial farms in Ivory-Coast, *Research in Veterinary Science* 102: 83–88.
- Kouakou, A.V., Kouakou, V., Kouassi, A.L., Kouakou, K.A., Koffi, Y.M., Yapi, R.B., Kouadio, L.K. ve Kouassi, A. (2015) ‘Prevalence of infectious bronchitis virus in West African poultry flocks’, *Tropical Animal Health and Production*, 47(4), 797–804.
- Kouam, M.K., Jacouba, M., Nsangou, I.N. and Teguaia, A., 2018. Assessment of biosecurity level in small-scale broiler farms in the Western Highlands of Cameroon. *Tropical Animal Health and Production*, 50(7), 1529–1538.
- Kumar, S., Thambiraja, T. S., Karuppanan, K., and Subramaniam, G. ,2022. Omicron and Delta variant of SARS-CoV-2: A comparative computational study of spike protein. *Journal of Medical Virology*, 94, 1641–1649.
- Lai, M. M., and, Cavanagh, D.,1997. The molecular biology of coronaviruses. *Advances in Virus Research*, 48, 1–100.

- Lee S-H, Lee H, Cho AY, Kim T-H, Choi Y-J, Ogtontogtokh N, Seo Y-R, Lee D-Y, Tseren-Ochir E-O, Myagmarsuren T, Lee D-H, Hyeon J-Y and Song C-S ,2024, First report and complete genome analysis of infectious bronchitis virus from retailed chicken meat in Mongolia in 2023. *Front. Vet. Sci.* 11:1465342.
- Lee, C. W., and Jackwood, M. W. , 2001, Origin and evolution of Georgia 98 (GA98), a new serotype of avian infectious bronchitis virus. *Virus Research*, 80(1–2), 33–39.
- Lee, Y.E. ; Kim, H. , Seo, C. , Park, T. , Lee, K.B. , Yoo, S.Y. , Hong, S.C. , Kim, J.T. , Lee, J. ,2017. Marine polysaccharides: therapeutic efficacy and biomedical applications, *Arch. Pharm. Res.* 40 ,9 , 1006–1020.
- Lemey, P., Rambaut, A., Drummond, A. J.,and Suchard, M. A.,2009,Bayesian phylogeography finds its roots. *PLoS computational biology*, 5(9), e1000520.
- Lisowska A, Sajewicz-Krukowska J, Fusaro A, *ve ark* ,2017, First characterization of a Middle-East GI-23 lineage (Var2-like) of infectious bronchitis virus in Europe. *Virus Res*, 242, 43-48.
- Liu S, Chen J, Han Z, Zhang Q, Shao Y, Kong X, *ve ark* .,2006, Infectious bronchitis virus: S1 gene characteristics of vaccines used in China and efficacy of vaccination against heterologous strains from China. *Avian Pathol.* 35:394– 9.
- Liu, H., Yang, X., Zhang, Z., Li, J., Zou, W., Zeng, F., and Wang, H. ,2017. Comparative transcriptome analysis reveals induction of apoptosis in chicken kidney cells associated with the virulence of nephropathogenic infectious bronchitis virus. *Microbial Pathogenesis*, 113, 451–459.
- Liu, S. W., Zhang, Q. Y., Chen, J. D., Han, Z. X., Liu, X., Feng, L.,and Kong, X. G. ,2006, Genetic diversity of avian infectious bronchitis coronavirus strains isolated in China between 1995 and 2004. *Archives of Virology*, 151(6), 1133–1148.
- Lucio, B., and Fabricant, J.,1990. Tissue tropism of three cloacal isolates and Massachusetts strain of infectious bronchitis virus. *Avian Dis.*, 34, 865–870.
- Łukaszuk E, Dziewulska D, Stenzel T. Occurrence and Phylogenetic Analysis of Avian Coronaviruses in Domestic Pigeons (*Columba livia domestica*) in Poland between 2016 and 2020. *Pathogens*. 2022 Jun 3;11(6):646.
- Mackay, I. M., Arden, K. E., and Nitsche, A. , 2002, Real-time PCR in virology. *Nucleic Acids Research*, 30(6), 1292–1305.
- Maduka, C.V., Igbokwe, I.O. and Atsanda, N.N., 2016. Appraisal of chicken production with associated biosecurity practices in commercial poultry farms located in Jos, Nigeria. *Scientifica*, 2016, Article 1914692.
- Mahzounieh, M, Karimi, I, Bouzari, M, Salehi T, Iravani, S. A,2006. serological survey for detection of avian infectious bronchitis virus antibodies in domestic village chickens in Esfahan, central Iran. *Iran J Vet Res.*7:89- 91.

- Manchester, K. L., 1996, Use of UV methods for measurement of protein and nucleic acid concentrations. *Biotechniques*, 20(6), 968–970.
- Matilda, A., Doreen D. O., Hilda E. O., Agyekum, O., Patricia, H., Michael, A., and Daniel, A., 2018. Serological and Molecular Surveillance of Infectious Bronchitis Virus Infection in Free-Range Chickens and Guinea Fowls in the Ga-East District of Ghana. *Journal of Veterinary Medicine*, 6, 1-6.
- Matilda, M., Asare, P., Laryea, E., Awuni, J.A., Baffuor-Awuah, S., Emikpe, B.O. ve Sylverken, A. (2018) ‘Serological survey of infectious bronchitis virus in backyard poultry in Ghana’, *Ghana Veterinary Medical Journal*, 20(2), 1–8.
- Matteo, L., Claudia, M. T., Giovanni, F., & Mattia, C., 2020. (Review) Infectious Bronchitis Virus Evolution, Diagnosis, and Control. *Vet. Sci.*, 7,79.
- Meir R, Rosenblut E, Perl S, *ve ark* ,2004, Identification of a novel nephropathogenic infectious bronchitis virus in Israel. *Avian Dis*, 48, 635-641.
- Meir, R., Maharat, O., Farnushi, Y., and Simanov, L., 2010, Development of a real-time TaqMan® RT-PCR assay for the detection of infectious bronchitis virus in chickens, and comparison of RT-PCR and virus isolation. *Journal of Virological Methods*, 163(2), 190–194.
- Milek, J.,and Blicharz-Domańska, K., 2018. Coronaviruses in avian species-review with focus on epidemiology and diagnosis in wild birds. *J. Vet. Res*, 62, 249–255.
- Mo M.L., *ve ark.*, 2013, Molecular epidemiology of infectious bronchitis virus in China. *Avian Pathology*, 42(6), 1–9.
- Mohamed, H., H., Kareem, E., H. , Azza, A. El-Sawah, Magdy F. E.. , Walid, H. K. , Ahmed Ali, and Ahmed S. Abdel-Moneim. ,2021. emergence, evolution and spread of infectious bronchitis virus genotype GI-23. *Archives of Virology*, 166, 9–26.
- Molenaar, R. J., Dijkman, R., de Wit, J. J. ,2020. Characterization of infectious bronchitis virus D181, a new serotype (GII-2). *Avian Pathology*, 49, 243–250.
- Mousavi, F. S., *ve ark.*, 2018, Phylogenetic analysis of infectious bronchitis virus strains in the Middle East. *Archives of Virology*, 163(3), 637-645.
- Munir, M., *ve ark.* , 2012, Detection and characterization of avian infectious bronchitis virus from non-vaccinated backyard chickens. *Avian Pathology*, 41(4), 361–369.
- Mustak,H.K., Mustak,I.B., Bilgen,N. and Saricam,S., 2022, Investigation of Infectious Bronchitis Virus GI-23 genotype circulating between 2014-2019 in Türkiye. *Pol J Vet Sci.*, 25(1):45-50.
- Nabavi H, Karimi V, Ghalyanchilangeroudi A ,2016, Phylogenetic analysis and full-length characterization of S1 gene of IS-1494 (Variant 2) like infectious bronchitis virus isolates, Iran, 2015. *Virology Reports*, 6, 18-24.
- Ntirandekura, J.B., 2011. Séroprévalence de la bronchite infectieuse en aviculture traditionnelle au Sénégal (Mémoire de diplôme de Master), en santé publique vétérinaire (41 pages).

- OIE (World Organisation for Animal Health), 2021, Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals – Infectious Bronchitis.
- OIE (World Organisation for Animal Health), 2021. Terrestrial Animal Health Code – Chapter 6.5: Biosecurity Procedures in Poultry Production. Paris: OIE.
- Olwande, P.O., Ogara, W.O., Okuthe, S.O., Muchemi, G., Okoth, E., Odindo, M.O. and Adhiambo, R.F., 2010. Assessing the productivity of indigenous chickens in an extensive management system in southern Nyanza, Kenya. *Tropical Animal Health and Production*, 42(2), 283–288.
- Owoade, A.A., Ducatez, M.F., Muller, C.P., 2006. Seroprevalence of avian influenza virus, infectious bronchitis virus, reovirus, avian pneumovirus, infectious laryngotracheitis virus, and avian leucosis virus in Nigerian poultry. *Avian Dis.* 50, 222–227.'
- Öngör, H., *ve ark.*, 2021, Detection and molecular characterization of infectious bronchitis virus in poultry flocks in Türkiye. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 68(2), 145-152.
- Permin, A. and Detmer, A., 2007. Improvement of Management and Biosecurity Practices in Smallholder Producers. Rome: FAO.
- Pierson, F.W., 2001. Biosecurity: Principles and Practices in the Commercial Poultry Industry. Virginia Polytechnic Institute and State University, Center for Molecular Medicine and Infectious Diseases, Virginia, USA.
- Podzorski, R.P.; Loeffelholz, M. and Hayden, R.T.(2006). Detection and characterization of molecular amplification products: agarose gel electrophoresis, southern blot hybridization, restriction Enzyme digest analysis, and Enzyme-Linked Immunoassay. p. 234-263. In: Tang Y. and Stratton C.W. (ed), *Advanced techniques in diagnostic microbiology*. Springer Science Business Media, LLC.
- Pohjola, L., Tammiranta, N. , Ek-Kommonen, C. , Soveri, T. , Hänninen, M. L. , Fredriksson Ahomaa, M. and Huovilainen, A.,2017. A survey for selected avian viral pathogens in backyard chicken farms in Finland, *Avian Pathology*, 46:2, 166-172.
- Pohjola, L., Ek-Kommonen, C., Soveri, T., Hänninen, M.-L. ve Huovilainen, A. (2017) 'Detection of coronaviruses in backyard chickens in Finland', *Acta Veterinaria Scandinavica*, 59(1), 3–8.
- Pohjola, L., Rossow, L., Huovilainen, A., Soveri, T., Haenninen, M.L. and Fredriksson-Ahomaa, M. ,2015. Questionnaire study and postmortem findings in backyard chicken flocks in Finland. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 57, 3.
- Pohjola, L., Soveri, T., Sihvonen, L., Häkkinen, L. and Raulo, S., 2017. Low prevalence of avian coronaviruses in Finnish backyard flocks. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 59(1), 80.
- Racicot, M., and Vaillancourt, J.-P., 2017. Biosecurity: Assessing and managing risks. In *Proceedings of the 12e Journées de La Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras*, Tours, France, 20–34.

- Raheem, K. A., Kadhim, H. M., and Abdulrahman, S. A., 2018, Detection and molecular characterization of infectious bronchitis virus in broiler flocks in Iraq. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 32(2), 281–288.
- Raheem, M., Faraj, A.A., Al-Mashhadany, D.A., Al-Rawi, K., Abdulrahman, H. ve Ibrahim, H. (2018) ‘Molecular epidemiology of infectious bronchitis virus in Iraq and genetic relationship with neighboring countries’, *Archives of Virology*, 163(11), 3065–3075.
- Rahman SAE, Hoffmann M, Lueschow D, ve ark ,2015, Isolation and characterization of new variant strains of infectious bronchitis virus in Northern Egypt. *Adv Anim Vet Sci*, 3, 362-371.
- Raj, G. D., and Jones, R. C.,1997. Infectious bronchitis virus: immunopathogenesis of infection in the chicken. *Avian Pathol.*, 26,4,677-706.
- Ramakrishnan, S., and Deepthi K., 2019. Avian Infectious Bronchitis Virus. In Y. S. Malik ve ark. (Eds.), *Recent Advances in Animal Virology* (pp. 301–319). Springer Nature Singapore Pte Ltd.
- Rasschaert, D., and Laude, H. ,1987. The predicted primary structure of the peplomer protein E2 of the porcine coronavirus transmissible gastroenteritis virus. *J. Gen. Virol.*, 68, 1883.
- Rocha, E., Cox, N. J., Black, R. A., Harmon, M. W., Harrison, C. J., and Kendal, A.P., 1991. Antigenic and genetic variation in influenza A (H1N1) virus isolates recovered from a persistently infected immunodeficient child. *J. Virol.*, 65, 2340.
- Roussan, D.A., Khawaldeh, G. ve Shaheen, I.A. (2009) ‘Molecular characterization of infectious bronchitis virus isolates from broiler flocks in Jordan’, *Poultry Science*, 88(3), 663–668.
- Roussan, D.A., Khawaldeh, G.Y., Shaheen, I.A., 2009. Infectious bronchitis virus in Jordanian chickens: seroprevalence and detection. *The Canadian Veterinary Journal*. 50, 77–80.
- Saadat, Y., Ghafouri, S.A., Tehrani, F., Langeroudi, A.G,2014. An active serological survey of antibodies to newcastle disease and avian influenza (H9N2) viruses in the unvaccinated backyard poultry in Bushehr province, Iran, 2012-2013. *Asian Pac J Trop Biomed* ;4(Suppl 1):S213-216.
- Saito, H., Keisuke N., Yuko, K., Keisuke, K., and Eiji, T.,2022. Molecular survey of infectious bronchitis virus on poultry farms in Gifu Prefecture, Japan from 2021 to 2022 by RT-PCR with an enhanced level of detection sensitivity for the S1 gene. *Journal of Veterinary Medicine Science*, 84,9, 1157–1163.
- Sambrook, J., and Russell, D. W., 2001, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Sample Size Calculator <https://www.calculator.net/sample-size-calculator.html>
- Saygılı.R. Coğrafya Harita, 2024. http://cografyaharita.com/turkiye-cografi_bolge-haritalari.html
- Schalk, A. F., and Hawin, M. C.,1931. An apparently new respiratory disease in baby chicks. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 78, 413–422.

- Seger W, GhalyanchiLangeroudi A, Karimi V, Madadgar O, Marandi MV, Hashemzadeh M.,2016, Genotyping of infectious bronchitis viruses from broiler farms in Iraq during 2014-2015. *Arch Virol.*,161(5):1229-37.
- Sevimli, A., Carli, K.T., Eyigör, A., Kahya, S. ve Temelli, S. (2015) ‘Detection and genetic analysis of IBV strains in poultry flocks in Turkey’, *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 39(1), 1–7.
- Sevimli, B., Aslan, E., Yilmaz, H., and Turan, N., 2015,Molecular detection and characterization of infectious bronchitis virus from chickens in Türkiye. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 62(3), 197–203.
- Seyfi Abad Shapouri, M., Mayahi, M., Assasi, K., and Charkhkar, S. ,2004. A survey of the prevalence of infectious bronchitis virus type 4/91 in Iran. *Acta Vet Hung*, 52, 163-166.
- Seyfi Abad Shapouri, M.R., Ghalyanchilangeroudi, A., Nouri, A., Toroghi, R. and Momayez, R., 2004. Prevalence of infectious bronchitis virus in Jordanian poultry farms. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 45(1–2), 123–130.
- Seyfi Abad Shapouri, M.R., Mayahi, M., Assasi, K. ve Charkhkar, S. (2004) ‘Isolation and molecular characterization of infectious bronchitis virus in Iran’, *Avian Pathology*, 33(6), 607–612.
- Shima, S. , Vahid, K. , Arash G., L., Mehdi, V., M., Masoud, H, Taha, Z. , Hamideh, N., Farshad T.,2018. seroprevalence and genotyping of avian infectious bronchitis virus detected in unvaccinated Iranian backyard chickens IRAN. *J. MICROBIOL.*,10 .1,65-71
- Shokri, M., Ghalyanchilangeroudi, A., Hashemzadeh, M., Hosseini, S.M. and Karimi, V., 2018. Detection and molecular characterization of 793/B, Variant-2 and QX genotypes of infectious bronchitis virus in Mazandaran Province, Iran. *Tropical Animal Health and Production*, 50(8), 1777–1785.
- Shokri, S., Vahid, K., Arash, G. L., Mehdi, V. M., Masoud, H., Taha, Z., Hamideh, N., and Farshad, T. ,2018. Seroprevalence and genotyping of avian infectious bronchitis virus detected from Iranian unvaccinated backyard chickens. *Iran. J. Microbiol.*, 10,1, 65-71.
- Smith, H.W., Cook, J.K.A. and Parsell, Z.E., 1985. The experimental infection of chickens with mixtures of infectious bronchitis virus and *Escherichia coli*. *Journal of General Virology*, 66(Pt 4), pp. 777–786.
- Smith, T. F., Waterman, M. S.,and Fitch, W. M., 2016, Comparative analysis of sequences by BLAST and phylogenetic methods. *Journal of Computational Biology*, 23(5), 347–356.
- TAFS-Forum, 2011. World Livestock Disease Atlas: A Quantitative Analysis of Global Animal Health Data (2006–2009). The World Bank.Washington, DC, USA.
- Tekelioğlu., B.K., Akın., Bünyamin. 2025. Yaban Hayvanları Hastalıkları, Zoonozlar Ve Antroponozlar. Meslek Yüksekokulları için Avcılık ve Yaban Hayatı. In (eds; Kara., Ö.T., Uçar., Y., Çetinkaya., D.) Akademisyen Kitapevi, Türkiye.

- Thébaud, G., Chadoeuf, J., Morelli, M. J., McCauley, J. W., and Haydon, D. T., 2010. The relationship between mutation frequency and replication strategy in positive-sense single-stranded RNA viruses. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 277, 809–817.
- Thermo Fisher Scientific., 2017, Acclaro Contaminant Identification Technology: More Confidence in Sample Purity. <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/MSD/Application-Notes/nanodrop-one-onc-spectrophotometer-dna-rna-contamination-en-an53596.pdf>
- Thermo Fisher Scientific., 2020, NanoDrop One/OneC Spectrophotometers User Guide. <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/CAD/manuals/nanodrop-one-user-guide.pdf>
- Timurkaan N, Öngör H, Kalender H, Karabulut B, Çöven F, Çevik A, Eröksüz H, Çetinkaya B ,2023, Pathological and molecular findings of visceral gout caused by Israel variant 2 (IS/1494/06) genotype of infectious bronchitis virus in chickens. *Ankara Univ Vet Fak Derg*, 70 (2), 149-156.
- Toro, H., Zhang, J. F., Gallardo, R. A., Van Santen, V. L., Van Ginkel, F. W., Joiner, K. S., and Breedlove, C. ,2014. S1 of distinct IBV population expressed from recombinant adenovirus confers protection against challenge. *Avian Diseases*, 58, 211–215.
- Trevisol, I.M., Caron, L., Mores, M.A.Z., Voss-Rech, D., da Silva Zani, G., Back, A., Marchesi, J.A.P. and Esteves, P.A., 2023. Pathogenicity of GI-23 avian infectious bronchitis virus strain isolated in Brazil. *Viruses*, 15(5), 1200.
- TÜİK, Türkiye İstatistik Kurumu,2023. <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Kumes-Hayvanciligi-Uretimi-Agustos-2023-49418>
- Valastro, V., Holmes, E.C., Britton, P., Fusaro, A., Jackwood, M.W., Cattoli, G. and Monne, I., 2016. S1 gene-based classification of infectious bronchitis virus: Establishment of six major genotypes and 32 lineages. *Infection, Genetics and Evolution*, 39, 349–364.
- Van Beurden, S. J., Berends, A. J., Krämer-Kühl, A., Spekreijse, D., Chénard, G., Philipp, H. C., Mundt, E., Rottier, P. J. M., and Verheije, M. H. ,2017. A reverse genetics system for avian coronavirus infectious bronchitis virus based on targeted RNA recombination. *Virology Journal*, 14, 109.
- Van Limbergen, T., Dewulf, J., Klinkenberg, M., Ducatelle, R., Gelaude, P., Méndez, J., Heinola, K., Papasolomontos, S., Szeleszczuk, P., and Maes, D.,2018. Scoring biosecurity in European conventional broiler production. *Poult. Sci.*, 97, 74–83.
- Webb, I., Keep, S., Littolff, K., Stuart, J., Freimanis, G., Britton, P., Davidson, A. D., Maier, H. J., and Bickerton, E.,2022. The genetic stability, replication kinetics, and cytopathogenicity of recombinant avian coronaviruses with a T16A or an A26F mutation within the E protein is cell-type dependent. *Viruses*, 14, 1784.
- Wikipedia. <https://en.wikipedia.org/wiki/Adana>

- Wilfinger, W. W., and Mackey, K., 1997, RNA integrity determination using RNase protection assay. *Biotechniques*, 22(3), 556–563.
- Williams, P. D., 2010. Darwinian interventions: Taming pathogens through evolutionary ecology. *Trends Parasitology*, 26, 83–92.
- Yakubu, A. , Musa-Azara, I. S. and Haruna, H. S. ,2014. “Village guinea fowl (*Numidia meleagris*) production systems in Nasarawa State, north central Nigeria: flock characteristics, husbandry and productivity,” *Livestock Research for Rural Development*, 26,41.
- Yang, Z., and Rannala, B. ,2012, *Molecular phylogenetics: principles and practice*. *Nature reviews genetics*, 13(5), 303-314.
- Yılmaz, A., Turan, N., Kırca, M., Yılmaz, H. and Karaoğlu, T., 2016. Molecular characterization and phylogenetic analysis of infectious bronchitis virus isolates in Turkey. *Avian Diseases*, 60(2), 343–350.
- Yılmaz ,H., Altan,E., Utku Y Cizmecigil, Aydın, G., Gulay Y., Ozturk, Ozge E. Bamac, Ozge, A, Paul B, Isabella M., Burhan, C., Kenton L Morgan, Bonto F., Juergen A Richt, Nuri,T., 2016, Phylogeny and S1 Gene Variation of Infectious Bronchitis Virus Detected in Broilers and Layers in Türkiye, *Avian Dis.*; 60(3):596-602.
- Yılmaz, A., *ve ark.*, 2016, Molecular analysis of infectious bronchitis virus strains from vaccinated and unvaccinated flocks in Türkiye. *Avian Diseases*, 60(2), 345-352.
- Zhao, J., Zhao, Y. and Zhang, G., 2023. Key aspects of coronavirus avian infectious bronchitis virus (IBV). *Pathogens*, 12(5), 698.

ÖZGEÇMİŞ

ROAA LATEEF RADHI AL SAEDI. Evli olup iki çocuk annesidir. 2010 yılında Basra Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nden mezun oldu ve 2015 yılında aynı fakültede Kanatlı Hastalıkları Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitimini tamamladı. Anadilim Arapça olup, ayrıca iyi derecede olarak İngilizce ve Türkçe dillerine de hakimim. 2015–2018 yılları arasında Basra Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nde Kanatlı Hastalıkları Anabilim Dalı'nda öğretim görevlisi olarak görev yaptı, halen Basra Veteriner Hastanesi Kanatlı Hayvanlar Bölümü'nde veteriner hekim olarak çalışmaktayım. Bilimsel alanda yayımlanmış üç araştırma makalem ve dört derleme makalem bulunmaktadır; bunlar arasında Pathogenicity Testing of Several APEC Isolates Obtained From Naturally Infected Broiler Birds Reared in Basrah, Transmissibility of Infectious Bronchitis Virus Vaccines Between Vaccinated and Unvaccinated/Attached Birds Under Experimental Conditions, Isolation and Serological Identification of Pathogenic Escherichia coli From Broiler Chicks adlı araştırmalar ile Coronavirus Avian Infectious Bronchitis Virus (IBV) Review From the COVID-19 Perspective, Wild Bird Avian Coronaviruses, Major Viral Infections of Poultry ve Chemical and Physical Disinfection Methods in Coronavirus Infections başlıklı derleme çalışmalarım yer almaktadır. Ayrıca pek çok ulusal ve uluslararası kongreye katıldım; bunlardan bazıları şunlardır: 2014 ve 2016 yıllarında Basra Üniversitesi'nde düzenlenen 4. ve 5. Uluslararası Veteriner Bilimleri Konferansları, 2017'de Güney Teknik Üniversitesi'nin 2. Uluslararası Konferansı ve aynı yıl Basra Üniversitesi'nde Zoonotik Kanatlı Hastalıkları Bilimsel Semineri, 2020 yılında UN-FAO ve Çukurova Üniversitesi iş birliği ile Adana'da düzenlenen “Küçük Ölçekli Tavuk Sürüleri için Aşılama ve Sağlık Yönetimi” eğitimi, 2021 yılında EJONS'un düzenlediği 11. Uluslararası Matematik, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Kongresi (Online, Ürdün), 2022 yılında Adana'da gerçekleştirilen Çukurova 8. Uluslararası Bilimsel Araştırmalar Konferansı, yine aynı yıl Paris'te düzenlenen EJONS 14. Uluslararası Matematik, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Kongresi (Online) ve Türkiye'nin Adıyaman ilinde gerçekleştirilen 9. Uluslararası GAP Zirvesi Bilimsel Araştırmalar Kongresi'dir. Genel bilgilernize saygılarımla arz ederim.





EKLER



Ek Çizelge A: Bu çalışmada kullanılan ticari kitlerin türleri ve özellikleri:

Kit	Reactions	Cat.No.
PureLink™ Viral RNA/DNA Mini Kit.	50	12280050
OneScript® Plus cDNA Synthesis Kit	100	G236
5 x HOT FIREPol® Probe qPCR Mix Plus (ROX)	50	08-14-0000S

Ek Çizelge B: PureLink™ Viral RNA/DNA Mini Kit'in bileşenleri ve miktarları aşağıdaki Çizelgede sunulmuştur.

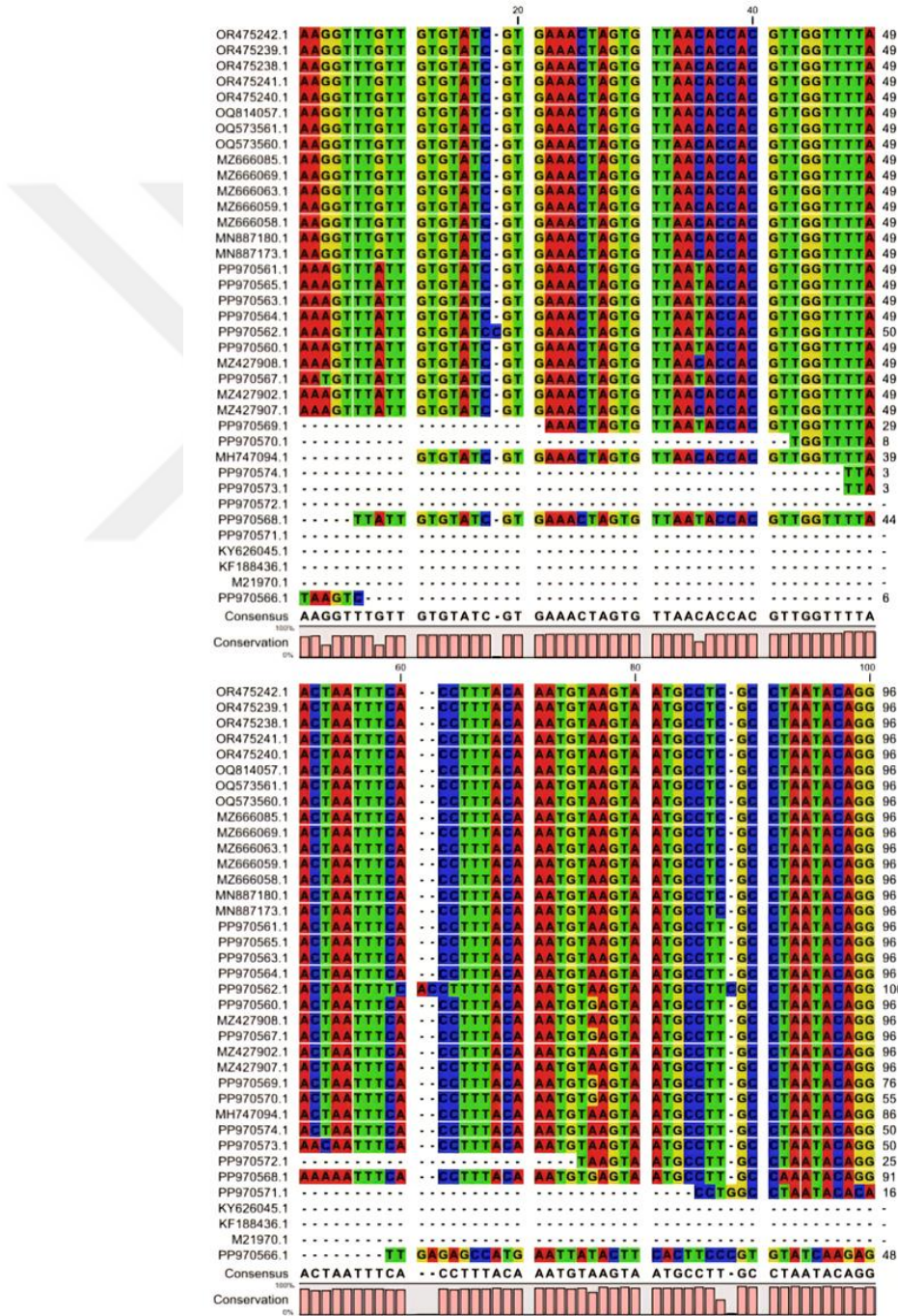
Bileşen	Miktar
Viral Lysis Buffer	32 mL
Wash Buffer	15 mL
Recovery Tüpleri	50 adet
Wash Tüpleri	2 × 50
Taşıyıcı RNA (Carrier RNA)	310 µg
RNazsız Su (E3)	15.5 mL
Viral Spin Kolonları (Toplama Tüpleri ile)	50 adet

Ek Çizelge C: RT-PCR Deneylerinde kullanılan yardımcı ürünler, miktarları ve katalog numaraları

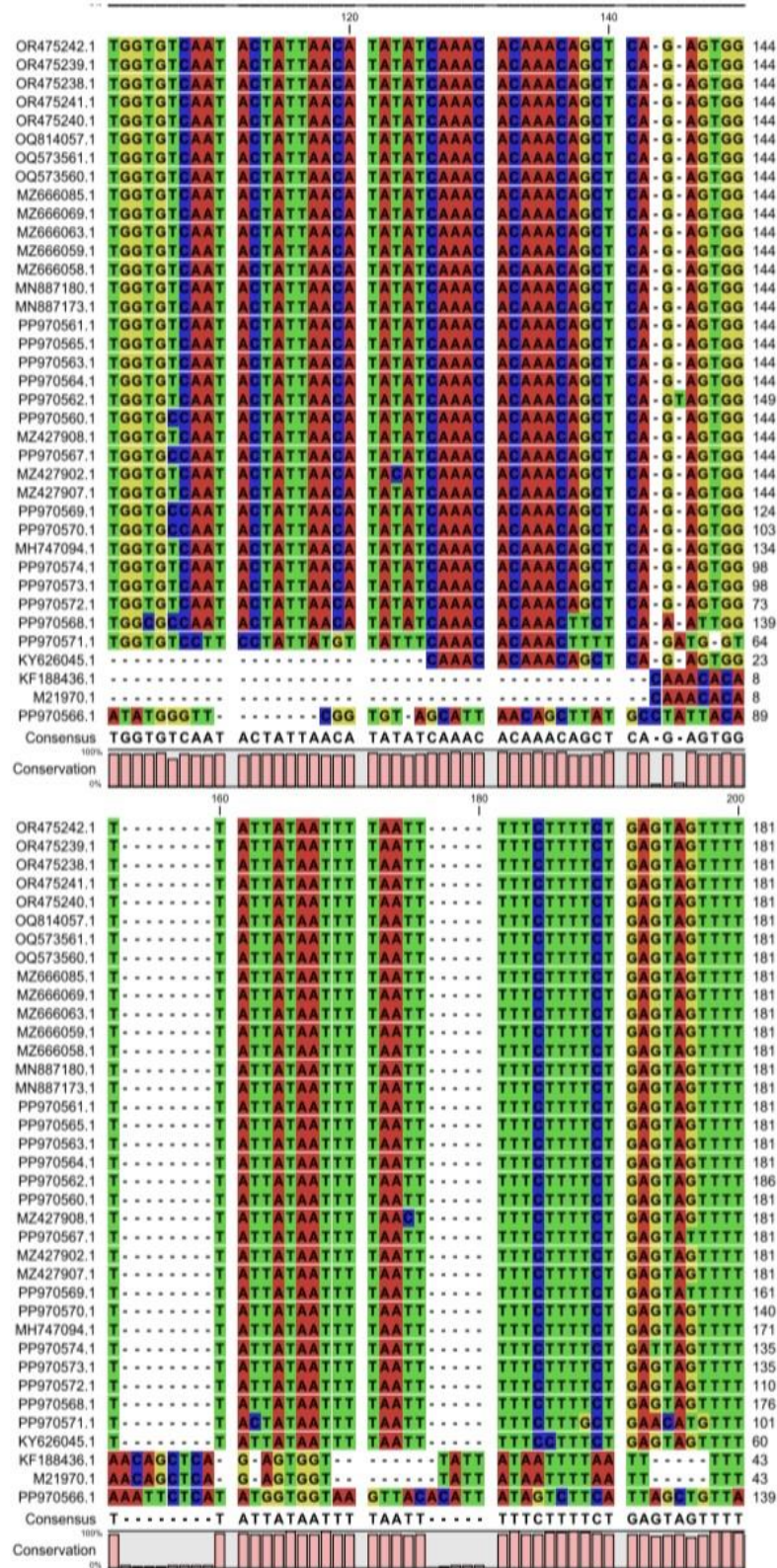
Ürün (Item)	Miktar (Quantity)	Katalog No (Cat. No.)
PureLink™ Viral Collection Tüpleri	100	12282100
RNase AWAY™ Dekontaminasyon Reaktifi	250 mL	10328011
PureLink™ Folyo Bant	50 parça	12261012
PureLink™ “Viral Lysis Buffer	500 mL	12282500
UltraPure™ “DEPC-işlenmiş Su”	1 L	750023
UltraPure™ DNase/RNase-Free Distile Su	500 mL	10977015
Maya tRNA	25 mg	15401011
Fosfat Tamponlu Salin (PBS)	500 mL	10010023
SuperScript™ III One-Step RT-PCR Sistemi (Platinum™ Taq DNA Polimeraz ile)	100 reaksiyon	12574026
RNA UltraSense™ One-Step Kantitatif RT-PCR Sistemi	100 reaksiyon	11732927
Platinum™ Kantitatif PCR SuperMix-UDG (ROX ile)	100 reaksiyon	11743100

Ek Çizelge D: OneScript® Plus cDNA Sentez Kiti bileşenleri

Ürün Bileşenleri (Product Components)	Miktar (Quantity)
OneScript® Plus Reverse Transcriptase	100 reaksiyon (100 µl)
RT Buffer	400 µl
Oligo(dT)	100 µl
Random Primerler	100 µl
dNTP	100 µl
Nükleazsız H ₂ O	2 × 1.0 ml

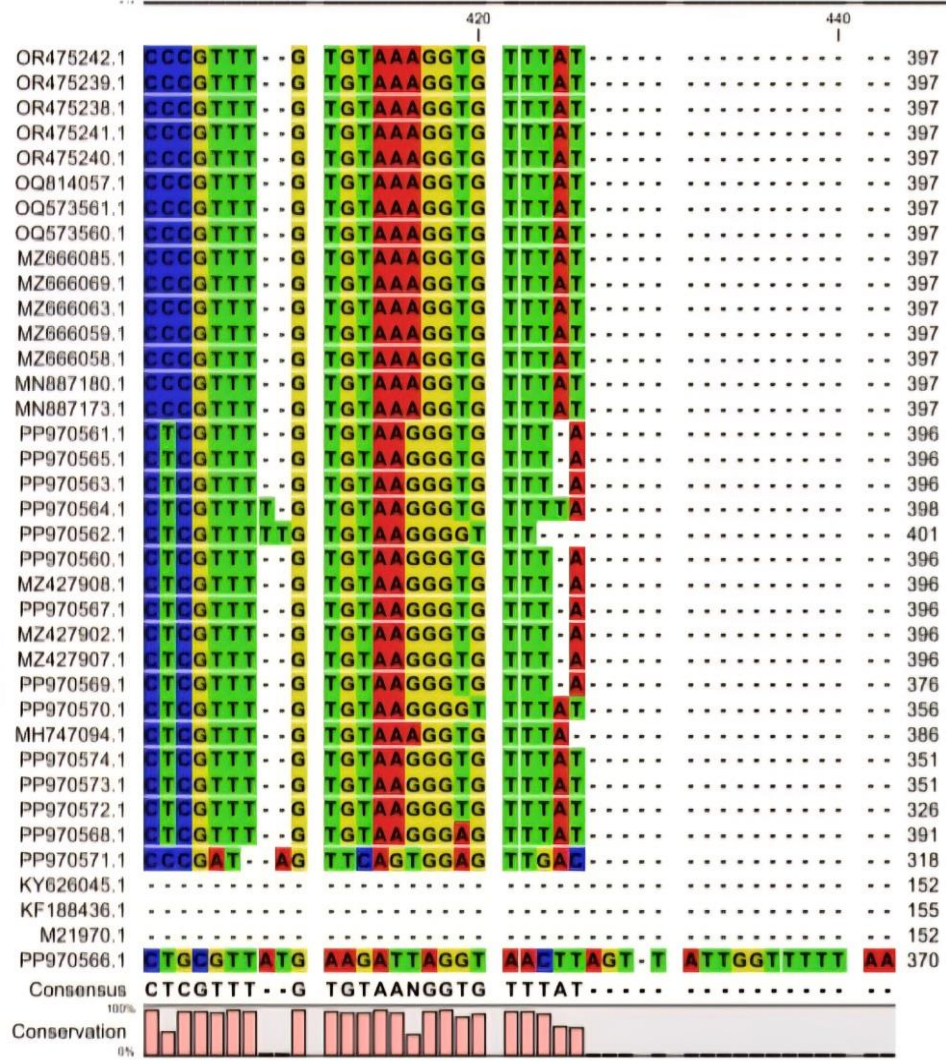


Ek Şekil A1: IBV saha izolatları ve referans suşlarının çoklu dizi hizalaması, S1 geninin 1–100 nükleotidleri).





Ek Şekil A3: IBV saha izolatları ve referans suşlarının çoklu dizi hizalaması, S1 geninin 201–300 nükleotidleri.



Ek Şekil A4: IBV saha izolatları ve referans suşlarının çoklu dizi hizalaması, S1 geninin 301–400 nükleotidleri.

