



**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MB-YL-2009-0003**

**AVIAN LEUCOSIS VİRUS ENFEKSİYONUNUN HALK
ELİNDEKİ KÜMESLERDE ANTİJENİK OLARAK
ARAŞTIRILMASI**

Ramazan KONAK

**DANIŞMAN
Doç. Dr. M. Tolga TAN**

AYDIN – 2009

**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MB-YL-2009-0003**

**AVIAN LEUCOSIS VIRUS ENFEKSİYONUNUN HALK
ELİNDEKİ KÜMESLERDE ANTİJENİK OLARAK
ARAŞTIRILMASI**

Ramazan KONAK

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Tolga TAN**

AYDIN - 2009

ÖNSÖZ

Bu çalışma, Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında yürütülmüştür. Çalışmada, Avian leucosis virus enfeksiyonunun Aydın yöresindeki yayılımını ve virusun yumurta kalitesi ile ilişkisini tespit etmek amaçlanmıştır. 2006 yılındaki kuş gribi salgını ve devamındaki itlaf çalışmalarından dolayı köylerdeki tavuk varlığının bir hayli azalmış olduğu gözlenmiş olup, bu durum araştırma için yumurta örneği toplamada güçlük yaşanmasına sebep olmuştur. Gerekli tedbir ve eğitim çalışmalarının yapıp köylerdeki tavuk varlığının tekrar arttırılmasında yarar görülmektedir. Kırsal kesimde ekonomik sıkıntılardan dolayı hayvansal protein sıkıntısı yaşayanların özellikle çocukların daha iyi beslenebilmesi için buralardaki kanatlı sektörünün dinamik tutulup taze ve süreklilik arz eden yumurta teminin sağlanması gerekmektedir. Günümüz bilim ve teknolojisi ile “kanatlı sektöründeki” sağlık problemlerinin çoğu çözülmüş olup, hijyen kurallarını uygulayan işletmelerde hastalık riski minimize edilebilmiştir. Fakat kırsal bölgelerde kendi ihtiyaçlarını karşılamak üzere üreticilik yapan çiftçilerimizin elindeki tavuklar her türlü hastalığa açıktır. Bu çalışma, Avian leucosis virus enfeksiyonundan kaynaklanan hastalıkların, köy tavukçuluğundaki dinamizmi engelleyebilecek etmenlerin dışında tutulabilmesi için yapılacak çalışmalara ışık tutacaktır.

Avian leucosis virus enfeksiyonu özellikle halk elindeki tavuklarda problem oluşturmaktadır. Verim kaybına yol açmasının yanı sıra bulaşıcı niteliği ile nesilden nesile aktarılıp yayılım göstermektedir. Bu çalışma ile Ege Bölgesi Aydın yöresindeki hastalığın dağılımı ELISA tekniği ile tespit edilmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlar ışığında bölgede virusun enfeksiyonunu azaltmaya yönelik tedbirler alınmalıdır.

Bu çalışma SAE-08005 kodlu proje olarak Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi tarafından desteklenerek gerçekleştirilmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
KABUL VE ONAY	i
ÖNSÖZ	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
RESİMLER DİZİNİ	vii
1. GİRİŞ	1
1.1. Etiyoloji	4
1.2. Epidemiyoloji	6
1.3. Lenfoid Leucosis	8
1.4. Klinik	9
1.5. Otopsi ve Nekropsi	10
1.6. Teşhis	12
1.7. Tedavi, Korunma ve Kontrol	13
2. GEREÇ ve YÖNTEM	14
2.1. Gereç	14
2.2. Yöntem	14
2.2.1. ELISA Yöntemi İle ALV p27 Antijeni Tespiti	14
2.2.2. Yumurta Kalite Kriterlerinin Ölçülmesi	16
3. BULGULAR	17
4. TARTIŞMA	26
5. SONUÇ	29
ÖZET	30

SUMMARY	31
KAYNAKLAR	32
ÖZGEÇMİŞ	36
TEŞEKKÜR	37

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

A :	Antikor
ALV :	Avian Leucosis Virus
ALSV :	Avian Leucosis Sarcoma Virus
COFAL :	Complement Fixation Avian Leucosis
DNA :	Deoksiribonükleik asit
ELISA :	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
g :	Gram
GSMH :	Gayri Safi Milli Hasıla
kg :	Kilo Gram
LL :	Lenfoid Leucosis
LLV :	Lenfoid Leucosis Virus
LTRs :	Long terminal repeats
µl :	Mikro litre
µ :	Mikron
NP :	Nonproducer
RIF :	Resistance Inducing Factor
RNA :	Ribo Nükleoik Asit
RSVA :	Rous Sarcoma Virusu Antikor
S/P :	Sample to positive ratio (Örneklerin pozitiflik oranı)
V :	Virem

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 3. 1. Aydın yöresinde halk elinde yetiştirilen tavukların ilçeler bazında ki ALV p27 antijeninin ELISA sonuçları.	18
Çizelge 3. 2. Analiz edilen kümeslerdeki ALV p27 antijeninin pozitif çıkma yüzdesi.	19
Çizelge 3. 3. Yumurta kalite kriteri sonuçları	23

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1.1. Eksojen virusların horizontal olarak yayılımı.	6
Şekil 1.2. Eksojen virusların kongenital olarak yayılımı.	6
Şekil 1.3. Endojen virusların genital olarak yayılımı.	7
Şekil 3.1. Örneklenen kümeslerden pozitiflik tespit edilenlerinin ilçeler bazında gösterimi.	17
Şekil 3.2. Aydın yöresinden toplanan yumurta örneklerinin albüminlerinde ALV p27 açısından pozitiflik sonuçları.	19

RESİMLER DİZİNİ

	Sayfa
Resim 1.1. Tavuklarda osteopetroz'un görünümü.	9
Resim 1.2. Karaciğerde tümör oluşumları.	11
Resim 1.3. Bağırsaklarda tümör oluşumları.	11
Resim 3.1.a. ALV p27 açısından ELISA test sonuçlarının görüntüleri.	20
Resim 3.1.b. ALV p27 açısından ELISA test sonuçlarının görüntüleri.	21
Resim 3.1.c. ALV p27 açısından ELISA test sonuçlarının görüntüleri.	21
Resim 3.1.d. ALV p27 açısından ELISA test sonuçlarının görüntüleri.	22
Resim 3.1.e. ALV p27 açısından ELISA test sonuçlarının görüntüleri.	22
Resim 3.2. Şekil indeksi ölçümü.	23
Resim 3.3. Kabuk mukavemeti ölçümü.	24
Resim 3.4. Kabuk kalınlığı ölçümü.	24
Resim 3.5. Haugh birimi ve sarı rengi ölçümü.	25

1. GİRİŞ

Beslenme, fizyolojik, sosyolojik ve psikolojik bir olaydır. İnsanın büyümek, gelişmek, sağlıklı ve üretken olarak uzun süre yaşayabilmek için gerekli olan tüm gıdaları almasıdır (Toprak 2002).

Hayvansal ve bitkisel gıda maddeleri sağlıklı ve dengeli beslenme için ihtiyaç duyulan karbonhidrat, protein, vitamin ve mineralleri içermektedirler. Et, süt ve yumurta gibi hayvansal orijinli gıdalar bitkisel kaynaklı olanlara oranla, ilgili besin maddelerini daha bol, dengeli ve daha fazla yararlanılabilir formda içermelerinden dolayı daha fazla öneme sahiptir (Açıkgöz ve Özkan 1996).

Süt çocuklarına 6–12. aydan itibaren yumurta verilebileceği gibi hamile ve emzikli kadınların diyetinde yumurtaya mutlaka yer verilmesi gerekmektedir (Toprak ve ark 2002).

Resmi gazetenin 06.12.2003 tarih ve 25308 sayılı Türk Gıda Kodeksi “Sporcu Tebliği” 5. maddesinin i. ve ii. bendinde sporcuların diyetlerinde tüketecekleri protein ve protein bileşenleri içeren ürünlerde yumurtanın belirli bir oranda yer alabileceği bildirilmektedir (Anonim 2003).

Beslenme insanların temel gereksinimlerinin başında gelmesine karşın, belirli bir satın alma gücüne sahip olmayan insanlar nicel anlamda yeterli gıdayı almaya çalışırlar. Türkiye’ de 1994 yılında en düşük gelire sahip olan hane halkının %20’ si toplam

gelirin %4,9' unu alırken, en yüksek gelire sahip olan hane halkının %20' si ise toplam gelirin %54,9' unu alır. Etkin bir gıda politikası oluşturulmasında ise gelir ve fiyat esneklikleri önemli araçlar oluştururlar. Türkiye' de süt, peynir ve yumurta grubu fiyat harcama esnekliği gelir gruplarına göre değişmekte olup en düşük gelir grubundan en yüksek gelir grubuna doğru azalmaktadır (Şengül 2004).

Ülkemizde geçimini tavukçuluk sektöründen temin eden (üretici çiftçi, sektörle ilgili esnaf, yem, ilaç, yan sanayi, nakliye, pazarlama dahil) insan sayısı yaklaşık 2 milyon kişidir. Sektörün yıllık cirosu 2,5 milyar dolar civarında olup GSMH (Gayri Safi Milli Hasıla) içindeki payı %1,7'dir. Tavukçuluk sektörü Ülkemiz tarımı içinde en güçlü olan sektörlerden biridir (Besd-Bir 2003).

Dünya nüfusunun hızla artmasıyla birlikte alternatif besin kaynaklarının bulunması ve mevcut kaynakların da verimliliğinin artırılması yönünde ciddi çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmalar neticesinde kırmızı ete alternatif olarak beyaz et ve yumurta üretimi hızla artmıştır. Ülkeler arasında kanatlı eti ve yumurta üretimi bakımından büyük farklılıklar bulunmasına rağmen, bu açıdan gelişmiş ülkelerin çoğunda diğer hayvansal düzeyleri de oldukça iyi durumdadır (FAO 2008).

Hayvancılık faaliyetlerinde ana hedef, insanların gereksinim duydukları ürünleri bol miktarda yüksek kalitede uygun zamanda mümkün olduğunca ucuza elde etmektir. Tavukçuluk, üretim potansiyeli nedeniyle gereksinim duyulan hayvansal gıda açığının kapatılmasında önemli bir kaynak olmuştur (Erener ve Sarıçiçek 1997).

Türkiye'nin birçok bölgesinde tavuk yetiştiriciliği açık alanda yapılmaktadır. Kırsal kesimde halkın elinde yetiştirilen tavuk, hindi, ördek ve kazların etinden ve

yumurtasından faydalanılmaktadır. Serbest üretim sistemi ve hayvan refahı konusundaki gelişmelere paralel olarak, açık alanda tavuk yetiştiriciliği teşvik edilmektedir. Üretim sistemleri yumurta kalite özelliklerini etkileyen önemli bir faktördür. Yumurta ağırlığı ve kabuk kalitesi bakımından üretim sistemleri arasında önemli farklılıklar bulunmaktadır (Şekeroğlu 2002). Serbest sistemde yetiştirilen tavuklarda; kirli yumurta oranı, yumurta ağırlığı, yumurta verimi, yumurta sarı rengi ve yumurta kabuk kalınlığı kafes sisteminde yetiştirilenlere oranla daha yüksektir. Bununla birlikte; yumurta şekil indeksi, ak indeksi, kabuk yüzey alanı, Haugh birimi ve et-kan lekeli yumurta oranı kafes (ticari) sistemlerde daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Serbest sistemde üretilen yumurtaların bakteri kirliliği ve ağır metal kirliliği yönünden kafes sisteminden daha riskli olduğu bildirilmektedir (Anonim 1998, Fraser ve Bain 1994, Hughes ve Dun 1983, Levendecker ve ark 2001, Mostert ve ark 1995, Pavlovski ve Hopic 2001, Şekeroğlu, 2002, Zrodowski ve ark 1994).

Avian Leucosis Virus (ALV) enfeksiyonundan kaynaklanan hastalıklar özellikle halk elindeki tavuklarda problem oluşturmaktadır. Verim kaybına yol açmasının yanı sıra bulaşıcı niteliği ile nesilden nesile aktarılıp yayılım göstermektedir. Hastalık görülen sürülerde ölüm oranı % 5'ten %40'a kadar çıkabilir. Ölüm oranının artması sadece elverişsiz koşullar nedeniyle değil, aynı zamanda genetik yapıdan da kaynaklanabilir. Bazı yumurtacı soy veya hatların bu hastalığa karşı daha dayanıklı olduğu belirlenmiştir (Matthews 1982).

Leucosis/Sarkoma grubu virus enfeksiyonları sonucu bulaşıcı nitelikteki iyi veya kötü huylu tümörler meydana gelirler. Doğal koşullar altında en fazla lenfoid leucosis (LL) görülmektedir. Diğer önemli hastalıklar: erythroblastosis, myeloblastosis, endothelioma, nephroblastoma, hepatocarcinoma, fibrosarcoma ve osteopetrosis'dir. Leucosis/Sarkoma grubundaki neoplazmlardan yalnızca LL yeterli ve etkili ekonomik öneme sahiptir. Diğer hastalıklar bazı istisnalar hariç sporadik olarak meydana gelmektedir. Son yıllarda, ALV'nin neden olduğu neoplastik bozukluklar olmaksızın meydana gelen subklinik olgulara da rastlanmaktadır (Payne ve Purchase 1991, Yardımcı 2002).

Avian leucosis – sarcoma virusunun (ALSV) taşınabilir neoplastik hastalıkların ajanı olduğunu ve Erythroblastosisin deneysel olarak bulaştırılabilen ilk Leucosis/Sarkoma grubu virus enfeksiyonu olduğunu ilk kez Ellerman ve Bank adlı araştırmacılar 1908'de tespit etmişlerdir. Rous adlı araştırmacı ise 1911 yılında avian sarcoma'nın virusla bulaşan bir tümör olduğunu göstermiştir (Payne ve ark 1991).

ALV, kanatlılarda birçok önemli hastalığın nedeniyken insanlar üzerinde bir hastalık oluşturmamakta ve insanları enfekte etmemektedir (Payne ve ark 1991, Timoney ve ark 1988).

1.1. Etiyoloji

Leucosis/Sarcoma grubu hastalıkların etkeni, Retroviridae familyası, Oncovirinae altfamilyasına ait ALSV, tip C onkoviruslarının subgrubunda yer almaktadır (Matthews 1982).

LLV (Lenfoid leucosis virus)'nin viral RNA genomu diploiddir ve 5'-gag-pol-env-3' sekansında 3 genetik bölgeye sahiptir. Bu genetik makyaj sonucu yavaş hücre transformasyonu ve birkaç ay süren tümör oluşumu görülmektedir. Diğer avian oncovirusları hızlı neoplastik transformasyona ve birkaç hafta içinde hızlı tümör gelişimine neden olurlar. Akut olarak transforme olan bu viruslar ilave genlere sahiptirler. Bunlar “onc” genlerdir; onkojenik transformasyondan sorumludurlar. Örneğin: Rous sarcoma virusunun sahip olduğu genetik sekans 5'-gag-pol-env-src-3' dür ve src geni orijinal olarak hücresel genlerden elde edilir. Gag geni tarafından kodlanan majör grup spesifik antijen p27 grupların tüm viruslarında ortaktır ve tanı testlerinde önem taşır. Virionun gp85 adlı glikoproteini “env” geni tarafından kodlanmakta ve virusun subgrup spesifitesini belirlemektedir (Payne ve Purchase 1991).

Piraino (1967)'ya göre hücrelerin virus enfeksiyonu hücre membranı üzerinde bulunan reseptörler vasıtasıyla olur. Viral RNA sitoplazmada salınır ve reverse transkriptaz etkisiyle template viral RNA'dan tek iplikçikli viral DNA sentezlenir. Tek iplikçikten sentezlenen lineer yapıdaki ikinci bir çift iplikçikli DNA nukleusa gider ve konakçı DNA'sına entegre olur. Proviral genler aynı tercihle viriondaki kendi RNA kopyalarına entegre olurlar. Daha

sonra da LTRs (long terminal repeats) olarak bilinen ve proviral DNA'nın viral RNA'ya transkripsiyonunun kontrolünde promotor olarak rol oynayan nükleotid sekansları ile birleşir. Transkribe olan viral RNA molekülleri yeni oluşan virionlarda ya genomik RNA olarak ya da virion formunda gag, pol ve env genlerinin enzimatik ürünlerinin ve proteinlerin üretiminde translasyon yapan messenger RNA olarak hizmet ederler. Bu ürünler hücrelerin plazma membranlarına lokalize olur ve hücrelerde gelişen sferoidal virionların içinde bulunurlar (Payne ve Purchase 1991).

LLV tümör meydana getirmesinde 2 tip mekanizma vardır. Birincide, yavaş transforme olan LLV normal onkogene komşu bir konakçı genomuna entegre olarak hücreleri transforme eder. Bu onkogen, daha sonra viral LTR promotorunun etkisi altında abnormal olarak transforme olmaktadır. Bu mekanizma “promoter inversiyon” olarak adlandırılır. İkinci tip mekanizmada, hızlı transforme olan ve onc geni taşıyan viruslar onkogenik özelliğe sahiptirler ve anormal gen ürünlerine neden olurlar (Calnek 1968, Morgan 1973, Payne ve Purchase 1991).

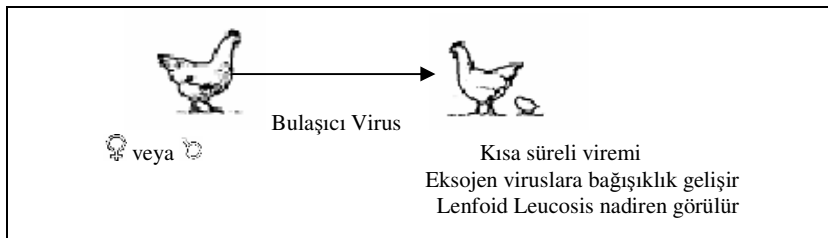
Bazı araştırmacılar, tavuklarda hastalık oluşturan ALSV'lerin başlıca 5 altgruba ayırdıklarını bildirmişlerdir (Duff ve Vogt 1969, Payne ve Purchase 1991, Vogt ve Ishizaki 1966). Bu gruplar “altgrup A,B,C,D,E”dir. Bazı araştırmacılar ise ALSV'leri zarf glikoproteinlerine göre “A,B,C,D,E,J” şeklinde alt gruplara ayırmışlardır (Fadly 1989, Payne 1998). LL hastalığının ise özellikle altgrup A ve B ALSV'leri tarafından oluşturulduğunu ve lenfomaların B hücre lenfoması (bursal orjinli) olduğu bildirilmektedir (Calnek 1968). Bu gruplardan E alt grubunun endojen leucosis viruslardan olduğunu ve tavuklar için yok denecek kadar önemsiz olduğunu belirtmiştir. E grubu dışındakiler ise dış kaynaklı eksojen viruslardır (Weiss 1973). Bu altgruplardan “A ve B” sahada çok yaygın olarak bulunurken “C ve D” ise nadiren görülmektedir. Son dönemlerde ise “J” tipinin daha çok broylerlerden izole edildiğini bildirmiştir. “B ve D” dışındakilerde kros nötralizasyonun önemsiz olduğunu bildirmiştir (Hanafusa ve ark 1970, Morgan 1973, Sandelin ve Estola 1974).

Zarflı virus olan ALV (Avian leucosis virus)'lerin zarf içeriklerindeki yüksek yağ miktarı ve enfektivitesinin etil eter ile ortadan kaldırılabileceğini bildirmişlerdir (Friesen ve Rubin 1961). Sodyum dodesil sülfat içerikli deterjanların ise virionu, serbest RNA ve core proteinlerine parçaladığını bildirmişlerdir (Robinson ve Duesberg 1968). Leucosis/sarcoma virusları 80-145 nm çapındadırlar. Virusun orjinine ve süspansiyon sıvısına bağlı olarak 37 °C'deki yarı ömrünün 100 ila 540 dakika arasında değişmekle birlikte, ortalama 260 dakika olduğu bildirilmiştir (Vogt 1965). Dougherty (1961)'un bildirdiğine göre kanatlı tümör virusları yüksek ısıda hızla inaktif olurlar. Rous sarcoma virusunun (RSV) 50 °C'deki yarı ömrünü 8,5 dakika ve 60 °C'de ise 0,7 dakika olduğunu bildirmiştir. Aynı zamanda bu viruslar pH 5-9 aralığında etkilenmedikleri gibi -60 °C'de yıllarca saklanabilirler.

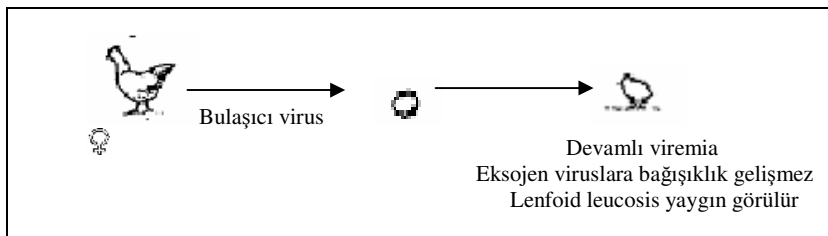
Bazı sarkoma virusları kendi başına çoğalacak genetik yapıdan yoksun oldukları için defektif viruslardır. Defektif virusların enfekte ettikleri hücrelerden infektif olmayan viruslar serbest kalırlar. Bu hücrelere NP (Nonproducer) hücreler denir. Herhangi bir leucosis virusu veya defektif olmayan sarkoma virusu yardımcı virus (helper virus) aktivitesi gösterebilir. Defektif virus ile helper virusun enfekte ettiği hücrelerde hem sarcoma virusu hem de helper virus birlikte çoğalabilir. Bu özellik leucosis/ sarcoma virusların identifikasyonunda kullanılmaktadır (Friesen ve Rubin 1961).

1.2. Epidemiyoloji

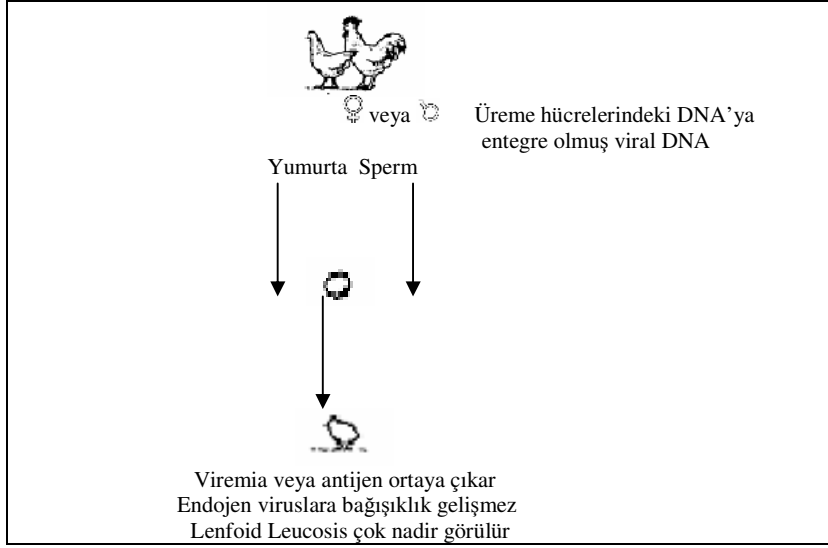
Tavuklar ALSV grubundaki bütün viruslar için doğal konakçıdır. ALSV'lerin meydana getirdiği hastalıklar sülün, keklik ve bıldırcın dışındaki diğer tüm kanatlılarda görülür. Bununla birlikte deneysel çalışmalarda bu türlerde enfekte edilebilmişlerdir. En fazla konakçıya Rous Sarkoma virusu sahiptir. Virus tavuk, hindi, ördek ve diğer kanatlılarda tümörlere neden olurlar. Dişiler LL'ye erkeklerden daha duyarlıdır (Vogt 1965). Ticari tavukların çoğu eksojen ALSV'ye duyarlıdır ve endojen leucosis virusu taşırlar. Ancak, bunların küçük bir yüzdesinde LL veya diğer tümörler oluşur. Kayıplar nadiren %30'u aşar. LL'den oluşan mortalite ve ekonomik kayıpların, prensip olarak yumurtacı ve damızlık yumurtacıların 5-9. aylarından itibaren başladığı varsayılır. Diğer neoplastik hastalıklar sporadik olarak görülürler.



Şekil 1.1. Eksojen virusların horizontal olarak yayılımı (Payne ve Purchase 1991).



Şekil 1.2. Eksojen virusların kongenital olarak yayılımı (Payne ve Purchase 1991).



Şekil 1.3. Endojen virusların genital olarak yayılımı (Payne ve Purchase 1991).

Genellikle civcivlerin çok azı vertikal olarak enfektedir. Çoğunlukla enfekte hayvanların dışkılarıyla temas sonucu enfekte olurlar. Anneden kaynaklanan vertikal bulaşmada ALSV, oviduktan yumurta albüminine oradan da embriyoya bulaşır. Virus cinsiyet hücrelerinde üremez. Horozların bulaşmada rolü yoktur, ancak portör olabilirler. Kongenital olarak enfekte olmuş hayvanlarda ALSV'ye karşı immunolojik tolerans gelişir. Bu nedenlerle virus nötralizan antikorları gelişmez. Enfekte anaçlar oviduklarında virus bulundururlar, yumurta ve embriyoları ile bulaştırırlar (Crittenden 1981, Payne ve Purchase 1991, Rubin ve ark 1961).

Horizontal olarak enfekte olan kısa süreli bir viremi gelişir ve sonra viremi olamadan virus-nötralizan antikorlar meydana gelir. Böyle hayvanlar genellikle virus taşıyıcıdırlar. Bu tipin anaçlarının çok azında ovidukt enfeksiyonu vardır; yavrularına bulaşma seyrek. ALSV enfeksiyonu yetişkin tavuklarda serolojik ve virolojik olarak 4 farklı şekilde meydana gelir (Rubin ve ark 1961, 1962).

- 1- Viremisiz, antikorsuz (V-,A-)
- 2- Viremisiz, antikorlu (V-,A+)
- 3- Viremik, antikorlu (V+,A+)

4- Viremik, antikorsuz (V+,A-)

Enfeksiyonsuz ve genetik olarak dirençli bir sürüde hayvanlar (V-,A-) kategorisindedir. Genetik olarak enfekte bir sürüde duyarlı hayvanlar diğer 3 kategoridedir. Çoğunluğu (V-,A+) ve %10'dan azı (V+,A-)’tir. (V+,A-) hayvanlarda LL (V-,A+) lere göre daha kolay gelişmektedir (Rubin ve ark 1962 ve Payne ve Bumstead 1982).

Enfeksiyöz virus yeni doğan civcivlerin dışkılarıyla yayılır. Ayrıca, yaşlı hayvanların salya, gaita, yumurta ve tüy döküntüleri ile de horizontal yolla bulaşır. Az sayıdaki ALSV ile enfekte hayvanlarda LL gelişir. Diğerleri portör olarak kalır. Enfeksiyon 1.haftadan sonra doğal yollarla olursa insidensi düşer. Tavuklarda hastalığa genetik direnç önemlidir. Bu da viral enfeksiyona ve tümör gelişimine direnç şeklinde olmaktadır (Rubin ve ark 1962 ve Payne ve Bumstead 1982).

1.3. Lenfoid Leucosis

Kanatlı leucosis-sarkoma kompleksi içinde ele alınan LL, tavukların neoplastik özellikte bir hastalığıdır. LL hastalığına ayrıca iri karaciğer hastalığı, tavuk leucosisi veya visceral leucosis adları da verilmektedir. Hastalık etkeni RNA içeren ve tümör oluşumuna yol açan bir retrovirustur (Timoney ve ark 1988, Payne ve Purchase 1991).

Doğal konakçısı olan tavuk ve hindilerin, bulaşıcı nitelikte bir hastalığıdır. Ancak tümör teşekkülü 18. haftayı aşan tavuklarda görülür ve en çok tahribatı yumurtaya girmekte olan sürülerde yapar. Virus, konakçı dışında düşük ısılarda yıllarca canlılığını korur. Hastalık görülen sürülerde ölüm oranı % 5’ten %40’a kadar çıkabilir. Ölüm oranının artması sadece elverişsiz koşullar nedeniyle değil, aynı zamanda genetik yapıdan da kaynaklanabilir. Bazı yumurtacı soy veya hatların bu hastalığa karşı daha dayanıklı olduğu belirlenmiştir (Crittenden 1981, Payne ve Purchase 1991).

Hastalık etkeni virusun civcive, döllü yumurta yoluyla, vertikal olarak geçtiği ortaya konulmuştur. Ayrıca, hastalık tavuktan tavuğa salya ve dışkı aracılığıyla da bulaşmaktadır. LL hastalığına genel olarak tavuklarda rastlanmaktadır. Benzer şekilde hindi ve ördeklerde de görüldüğüne ilişkin bulgulara da rastlanmıştır. Yumurta ile bulaşma önemlidir. Sindirim yoluyla bulaşma, virus dış koşullara dayanıklı olmadığından çok yavaştır (Payne ve Bumstead 1982).

Enfekte olmuş damızlıklarda kuluçka makinesindeki yumurtaların test edilmesi veya virus varlığında kloakal swab alınması ile tespit edilebilir. LL bu yolla eradike edilebilmektedir (Smith ve ark 1980, Okazaki ve ark. 1982).

1.4. Klinik

Virusun RPL 12, B 15, F 42 veya RAV 1 standart suşlarının duyarlı embiyolara veya 1-14 günlük duyarlı civcivlere inokülasyonundan sonra 14-30. haftalarda LL görülmektedir. LL her zaman bursa fabricusta bir tümör oluşumu ile başlar ve bursa fabricus küçülüp kayboluncaya kadar bu organda lokalize olur. Tavuk yumurtlama çağına girdiği zaman tümör metastaz yapar ve diğer organlara yayılır (Burmester ve ark 1959, Biggs ve Payne 1964).



Resim 1.1. Tavuklarda osteopetroz'un görünümü (www.poultrymed.com, 2007).

LL'nin başlıca özelliği viseral tümörlerdir. Bunlar karaciğer, dalak, böbrek ve genellikle 25 haftalıktan büyük kanatlıların bursalarında saptanabilir. Hastalık belirtileri, bulaşma ister yumurta aracılığı ile olsun isterse daha sonraki dönemlerde olsun, yumurta tavuklarının yumurtlama dönemlerine girdikleri yaşta ortaya çıkar. Etkilenmiş yumurtacı sürülerinde yumurta üretiminde düşüş gözlenebilir. Hastalıklı hayvanlarda abdomenin palpasyon yoluyla yoklanması sonucunda, karına doğru uzamış ve irileşmiş bir karaciğer olduğu hissedilir. Osteopetroz, bacak ve kanat kemiklerinde büyüyen, ancak nadir görülen bir avian leucosistir. Hasta kanatlıların bacakları eğri ve kalındır. LL aynı zamanda kan leucosisi olarak da ortaya çıkabilir. Bu tip eritroid ve/veya myleoid lösemiler oldukça seyrektir. Hasta hayvanlar halsizdir, solgundur ve zayıflamaktadır. Tümörler nedeniyle LL, Marek hastalığı ile karıştırılabilir. Ancak LL'de sinir sistemi hiçbir şekilde etkilenmez (paralizi yoktur). LL genellikle kanatlıların halsizleşmesine, kilo kaybetmesine ve sonuçta ölümüne neden olur. Doğru bir tanı için histopatolojik tetkiklerin yapılması gereklidir (Burmester ve ark 1959, Biggs ve Payne 1964).

1.5. Otopsi ve Nekropsi

Hastalığın klinik tablosunda olduğu gibi, tavuğun içi açıldığında da belirtiler son derece karakteristiktir. Karaciğerin büyüyerek bütün karın boşluğunu doldurduğu görülür.

Ayrıca granüler yapıda olduğu ve rengin griye çaldığı dikkati çeker. Hastalığın tahribat yaptığı diğer bir organ ise yumurtalıktır. Genel olarak yumurtalığın gri renkli tümörlerle kaplı olduğu görülür. Bu tümörler böbreklere de yayılabilir. Benzer şekilde, kalp, diğer iç organlar ile membranlarında etkilendiği ve tümör oluşumları ile kaplandığı dikkat çeker (Biggs ve Payne 1964, Timoney ve ark 1988, Şenköylü 2001).



Resim 1.2. Karaciğerde tümör oluşumları (www.poultrymed.com, 2007).



Resim 1.3. Bağırsaklarda tümör oluşumları (www.poultrymed.com, 2007).

1.6. Teşhis

Son yıllarda geliştirilen laboratuvar teknikleri ile hastalığın kesin tanısı yapılabilir. Kullanılan başlıca yöntemler, RSVA (Rous Sarcoma Virusu Antikor) testi, COFAL (Complement Fixation Avian Leucosis) ve RIF (Resistance Inducing Factor) testidir. ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) kolay uygulanabilir olması, kısa sürede sonuç vermesi, duyarlı ve spesifik bir test olması nedenleri ile LL'in geniş kapsamlı saha taramalarında tercih edilmektedir. ELISA ile ayrıca hem kan serumlarında hem de yumurta albümini örneklerinde ALV p27 antijeni tespit edilmektedir (Smith ve ark 1980, Crittenden ve ark 1984).

Leucosis tümörleri değişik boyanma özelliklerinden dolayı bu hastalık için özel olup, marek hastalığından ayırıcı tanıda önem taşır (Çelik 2005).

Crittenden ve ark (1984), Fadly (1989)'in bildirilerine göre ALV'nin laboratuvar tanısında test materyali olarak kan, plazma, kloakal swab, yumurta albümini ve nadiren de embriyo ve tümör dokuları kullanılmaktadır.

ALSV ile enfekte tavuklar virusu yumurta yolu ile saçtıkları ve yumurtanın albümin bölümü ise virusu en fazla miktarda içerdiği için, virusun izolasyonu ve direkt serolojik testi için yumurta albümini tercih edilmektedir (Smith ve ark 1980, Crittenden ve ark 1984).

ALSV'nin protein yapısında majör virion antijeni olan p27'nin tespiti, hastalığın tanısında temel kriterlerdendir. Saha enfeksiyonlarında kısa sürede tanıya yönelik materyalde p27'nin ELISA ile tespiti en uygun yöntemlerden birisidir (Smith ve ark1977, Smith ve ark 1980, Crittenden ve ark 1984).

1.7. Tedavi, Koruma ve Kontrol

Leucosis – sarcoma kompleksi tarafından oluşturulan tümörler herhangi bir tedaviye (uygulamaya) cevap vermezler ve pratiğe aktarılmış bir tedavi yöntemi yoktur (Timoney ve ark 1988). Leucosis taşımayan damızlıklardan leucosis taşımayan döllerin yetiştirilmesi, hastalığın eradike edilmesini sağlar. Oldukça etkin hijyenik önlemlerle piliç ve tavuk sürüleri bu hastalığa karşı korunabilir. Bu hastalıktan ari civcivlerin üretilebilmesi için seleksiyon ve ıslah çalışmalarından yararlanılabilir. Etkin olan diğer bir yöntem ise, havalandırılması özel filtreleri içeren kümes sistemleri kullanmaktır. Ancak bu sistemlerin maliyetleri yüksek olabilir. Şimdiye kadar olan uygulamalar bu yöntemin ekonomik olmadığını göstermektedir (Şenköylü 2001). Patojenik ALV'nin kalıtsal olarak bulaşımını engellemek için hastalıktan ari tavukların izolasyonu ile elde edilen hatlar kullanılmalıdır. Bu hatların elde sinde kullanılacak embriyolar ise virus taşıyıcısı olmayan tavuklardan seçilir (Spencer ve ark 1977).

Aşılama prosedürü ticari açıdan uygun değildir. Okazaki ve ark. 1982'de yaptıkları çalışmada avian leucosis'e karşı zayıflatılmış aşı üretimi çalışmalarının başarısız olduğunu bildirmişlerdir.

Kontrol, çevredeki enfeksiyonun azaltılmasına yönelik sürü yönetimi, iyi kalitede bakım ve besleme, yüksek standartta hijyen ve genetik olarak dirençli anaçlardan elde

edilen hayvanların kullanılmasıyla yapılır. enfeksiyonun yumurta ile bulaşması nedeniyle geriye dönük virüs izolasyonuna gidilir. Enfeksiyona dirençli hatların yetiştirilmesi ticari hayvanlarda sıklıkla rastlanan resesif genlerin kontrolü ile yapılmaktadır (Yardımcı 2002).

Bu çalışmanın amacı; halk elindeki tavuklarda ALV antijeni varlığını saptamak ve bunun yumurta kalite kriterleri ile ilişkisini araştırmaktır.

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Gereç

ALV p27 antijenin ELISA yöntemi ile araştırılması için, materyal olarak Aydın yöresini temsil edecek şekilde 6 farklı ilçeden toplanan 585 adet yumurta örneği kullanıldı. Çine’de 18, Germencik’te 8, İncirliova’da 9, Kuşadası’nda 4, Nazilli’de 12 ve Söke’de 8 olmak üzere 59 köyde toplam 151 farklı kümese ulaşıldı. ALV virusunu yumurtanın albümin kısmı daha fazla içerdiği için örneklerin albüminlerinden test yapıldı.

ELISA kiti olarak IDEXX- FlockCheck ALV Antijen Test Kitleri kullanıldı.

Yumurta kalite kriterleri ile ALV enfeksiyonu arasındaki ilişkiyi araştırmak için ELISA sonuçlarına göre örnekleme yapıldı. ALV p27 antijen varlığı açısından %100 pozitiflik içeren 4 adet kümeden 15’er tane olmak üzere 60 yumurta ile hiç antijen içermeyen 4 adet kümeden 15’er tane yumurta örneği olarak toplam 120 yumurtada çalışıldı.

2.2 Yöntem

2.2.1. ELISA Yöntemi İle ALV p27 Antijeni Tespiti

Yumurta albüminin viskoz yapısını çözebilmek için (Özbilgin ve ark 2001)'nın kullandığı yöntem modifiye edilerek seyreltme çözeltisi eklenmeden dondurup çözündürme yapıldı. Buna göre yumurta albüminlerinden 350 µl alınıp numune pozisyonu kaydedilerek boş mikro playtelere aktarıldı ve 3 defa derin dondurucuda dondurulup çözündürüldü. Viskoz yapısı kırılan albümin örneklerine, IDEXX- FlockCheck ALV Antijen Test Kiti prosedürüne göre aşağıdaki işlemler uygulandı:

- I- A1 ve A2 nolu mikro playte gözüne 100 µl negatif kontrol konuldu.
- II- A3 ve A4 nolu mikro playte gözüne 100 µl pozitif kontrol konuldu.
- III- Örneklerden 100 µl gözlere konuldu.
- IV- İnkübasyon için 60 d beklenildi.
- V- Mikro playtelerin tüm gözleri yaklaşık 350 µl disitile su ile 3 kez yıkandı.
- VI- Tüm gözlere 100 µl Rabbit Anti-p27:HRPO konjugant ilave edildi.
- VII- İnkübasyon için 60 d beklenildi.
- VIII- Mikro playtelerin tüm gözleri yaklaşık 350 µl disitile su ile 3 kez yıkandı.
- IX- Mikro playtelerin tüm gözlerine 100 µl TMB substrat eklendi.
- X- İnkübasyon için 15 d beklenildi.
- XI- Tüm gözlere 100 µl Stop Solüsyonu ilave edildi.
- XII- ELISA okuyucuda 650 nm'de okumalar yapıldı.

Analiz edilen örneklerde ALV p27 antijeninin varlığı, pozitif kontrollerin (10ng/ml p27 antijeni içeren) absorbands değerleri ortalaması ile örneklerin absorbands

değerleri kıyaslanarak tespit edildi. Örneklerin pozitiflik oranı (S/P) aşağıdaki formülle hesaplanarak antijenin relatif değerine ulaşıldı.

$$S/P = (\text{Ö.A.} - \text{NKO})/(\text{PKO}-\text{NKO})$$

Ö.A.: Örneğin absorbans değeri

NKO: Negatif kontrollerin absorbans değeri ortalamaları

PKO: Pozitif kontrollerin absorbans değeri ortalamaları

(IDEXX FlockChek)'in bildirdiğine göre S/P oranı 0,2'den büyük olan örnekler pozitif, 0,2'den küçük veya 0,2'ye eşit olan örnekler ise negatif olarak değerlendirildi.

S/P oranının hesaplanabilmesi için ise (IDEXX FlockChek)'e göre tüm playtelerde ki absorbans değerlerinde negatif kontrol ortalamalarının 0,150'den düşük olması ve pozitif kontrol ortalamaları ile negatif kontrol ortalamaları arasındaki farkın 0,200'den fazla olması şartı arandı.

2.2.2. Yumurta Kalite Kriterlerinin Ölçülmesi

Köylerden seri bir şekilde taze yumurta örnekleri toplandı. Laboratuvara getirilen örnekler oda koşullarında ve aynı şartlarda 1 gece bekletildi ve aşağıda belirtilen kriterlere bakıldı:

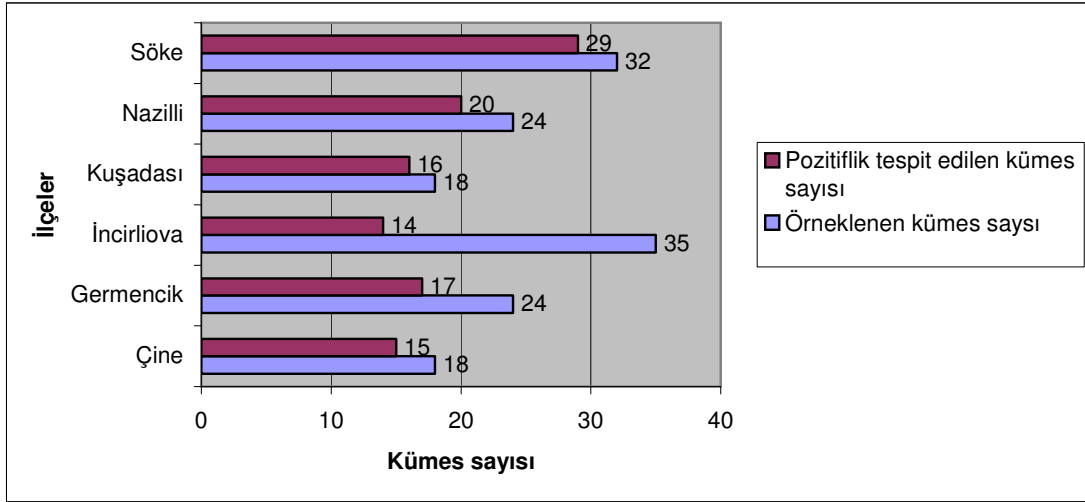
- **Yumurta ağırlığı:** Mettler Toledo marka 0,01 duyarlıklı hassas terazi ile “g” cinsinden ölçüldü.
- **Şekil indeksi:** Şekil indeksi ölçüm cihazı ile ölçüldü.
- **Kabuk mukavemeti:** SANOVO marka Egg Force Reader cihazı ile kg/cm² cinsinden ölçüldü.

- **Yumurta kabuk kalınlığı:** Orka Technology marka Egg Shell Thickness Gauge cihazı ile μ cinsinden ölçüldü.
- **Yumurta Haugh birimi:** SANOVO marka Egg Analyzer cihazı ile ölçüldü.
- **Yumurta sarı rengi:** SANOVO marka Egg Analyzer cihazı ile roche skalasına göre ölçüldü.

Elde edilen verilerden JMP istatistik programı ile varyans analizi yapıldı.

3. BULGULAR

Çizelge 3.1’de görüldüğü üzere örnekleme yapılan 151 adet kümeden 110 tanesinde (% 72,85) ALV p27 antijenin var olduğu görüldü. Şekil 3.1. incelendiğinde İncirlioiva’da örnekleme yapılan 35 kümeden, pozitiflik tespit edilen kümes sayısının 14 olduğu tespit edildi. Çine ve Nazilli’nin coğrafi yapısı nedeniyle sırasıyla 18 ve 12 olmak üzere diğerlerinden daha fazla köye ulaşıldı. Ancak Çine’de köy sayısı fazla olmasına rağmen ulaşılan 18 kümeden 15 tanesinde pozitiflik tespit edildi. Kuşadası’nda ise 18 kümeden 16’sında pozitiflik tespit edildi. Diğer ilçelere bakıldığında, Söke’de 32 kümeden 29’unda, Germencik ve Nazilli’nin 24’er küme sırasıyla 17 ve 20’sinde pozitiflik tespit edildi.



Şekil 3.1. Örneklenen kümeslerden pozitiflik tespit edilenlerinin ilçeler bazında gösterimi.

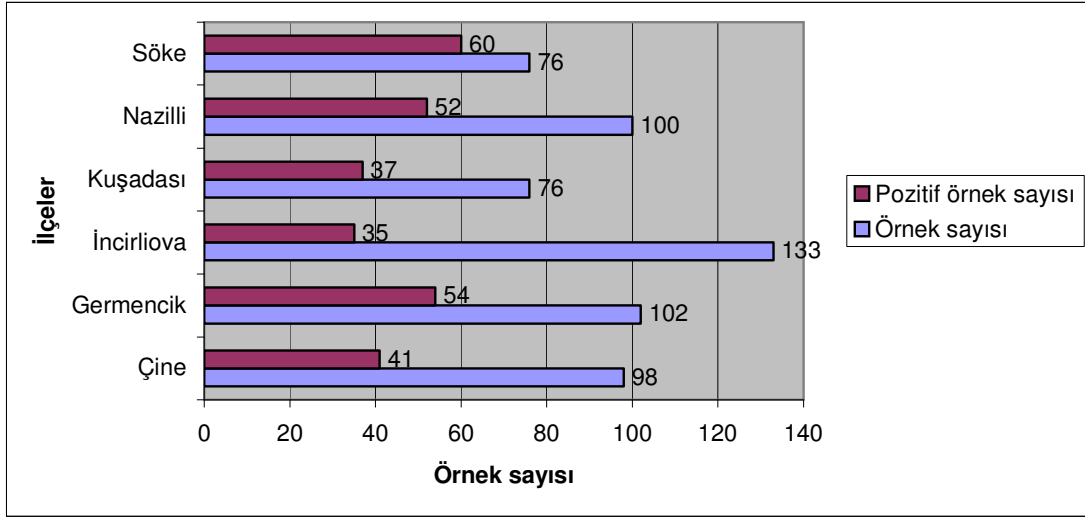
Çizelge 3.1’e göre incelenen kümeslerde görülen pozitiflik durumlarını oransal olarak bakarsak; Söke’de bulunan kümeslerin %90,63’ünde pozitiflik en yüksek oranı göstermiştir. Diğer ilçelerdeki kümeslerin pozitiflik oranı ise sırayla Kuşadası’nda %88,89, Nazilli’de % 83,33, Germencik’te % 70,83 ve İncirlioiva’da % 40 şeklinde görüldü.

Çizelge 3. 1. Aydın yöresinde halk elinde yetiştirilen tavukların ilçeler bazında ki ALV p27 antijeninin ELISA sonuçları.

	Örnekleme kümesi sayısı	Pozitiflik tespiti edilen küme sayısı	Örnek sayısı	Pozitif örnek sayısı
Çine	18	15 (% 83,33)	98	41 (% 41,84)
Germencik	24	17 (% 70,83)	102	54 (% 52,94)
İncirliova	35	14 (% 40,00)	133	35 (% 26,32)
Kuşadası	18	16 (% 88,89)	76	37 (% 48,68)
Nazilli	24	20 (% 83,33)	100	52 (% 52,00)
Söke	32	29 (% 90,63)	76	60 (% 78,95)
Toplam	151	110 (% 72,85)	585	279 (% 47,69)

Araştırmada, Aydın yöresindeki ALV enfeksiyonunun sıklığının tespiti amacıyla toplam 585 adet yumurta toplandı (Çizelge 3.1). ELISA ile ALV p27 antijeni yönünden test edilen yumurta albüminlerinden 279 (% 47,69) adeti pozitif bulundu. Çizelge 3.1 ve şekil 3.2 incelendiğinde İncirliova'dan 133, Germencik'ten 102, Nazilli'den 100, Çine'den 98, Kuşadası'ndan 76 ve Söke'den 76 örnek toplandığı görülmektedir.

Çizelge 3.1'e göre Söke'den toplanan örneklerden 60 tanesi ALV p27 pozitif sonuç vererek % 78,95 oranla en yüksek grubu oluşturduğu tespit edildi. Germencik'te 54 (% 52,94), Nazilli'de 52 (% 52), Kuşadası'nda 37 (% 48,68), Çine'de 41 (% 41,84) örnek ve İncirliova'da 35 (% 26,32) örneğin ALV p27 antijeni içerdiği görüldü.



Şekil 3.2. Aydın yöresinden toplanan yumurta örneklerinin albüminlerinde ALV p27 açısından pozitiflik sonuçları.

Çizelge 3. 2. Analiz edilen kümeslerdeki ALV p27 antijeninin pozitif çıkma yüzdesi.

Kümes no	Pozitif örnek (%)	Kümes no	Pozitif örnek (%)	Kümes no	Pozitif örnek (%)	Kümes no	Pozitif örnek (%)	Kümes no	Pozitif örnek (%)
1	67	30	60	63	100	95	40	124	100
3	50	31	67	64	50	96	50	125	67
5	100	32	67	65	50	97	17	126	75
6	20	33	33	67	33	98	50	127	67
9	75	34	50	68	83	101	60	128	50
10	67	35	100	69	67	102	50	129	67
11	33	36	100	71	75	103	100	130	80
13	67	37	50	72	80	104	100	131	33
16	80	38	50	73	100	106	83	132	50
17	33	41	67	74	40	107	67	133	20
18	20	42	100	75	17	108	33	134	67
19	20	44	100	76	33	109	50	135	50
20	100	45	100	77	33	11	100	136	33
21	100	47	33	78	20	113	67	137	83
22	67	50	50	83	100	114	33	139	20
23	50	51	100	88	100	115	83	140	75
24	50	53	50	89	75	116	20	142	17
25	40	58	50	90	17	117	75	145	100
26	60	59	50	91	17	118	67	146	50
27	67	60	75	92	33	119	33	147	50

28	67	61	67	93	33	122	67	148	67
29	67	62	100	94	20	123	50	150	100

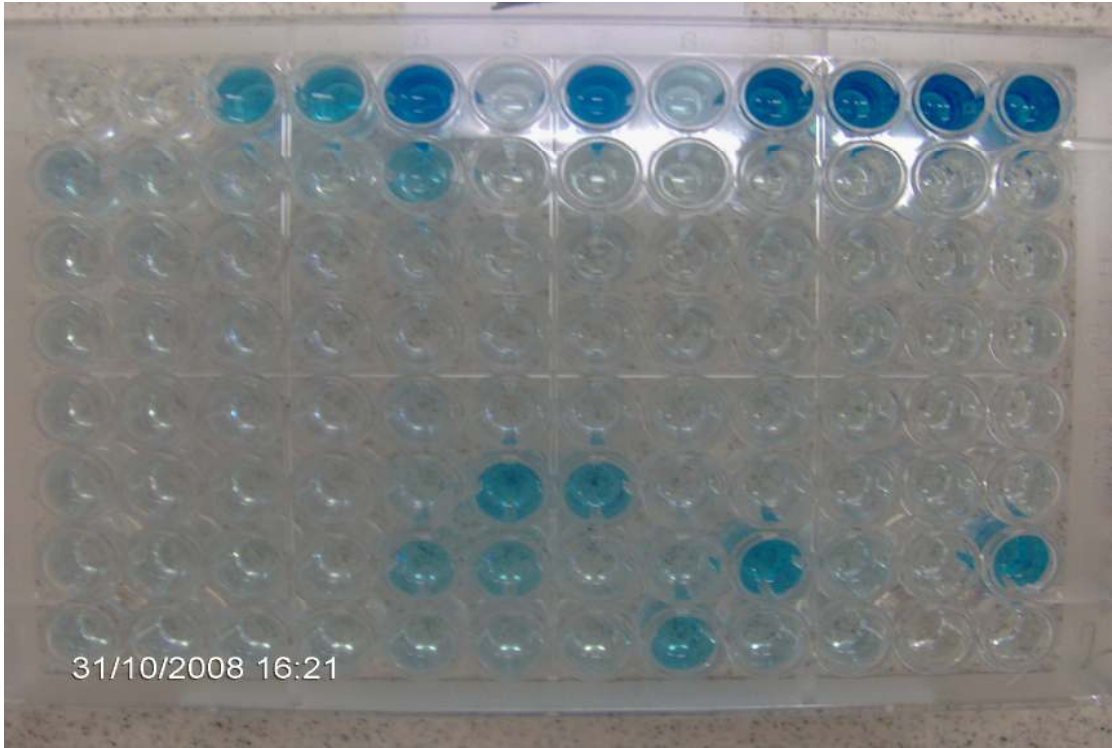
Bu çalışmada analiz ettiğimiz 151 adet kümeden 110 tanesinde pozitiflik tespit edildiği belirtilmişti. Çizelge 3.2. incelendiğinde pozitiflik tespit edilen 110 kümedeki yumurta örneklerinde ALV p27 antijeninin pozitif çıkma oranı % 17 ile % 100 arasında değişmektedir. En düşük % 17 olarak 5 adet kümede, en yüksek % 100 olarak ise 20 adet kümede görüldü.



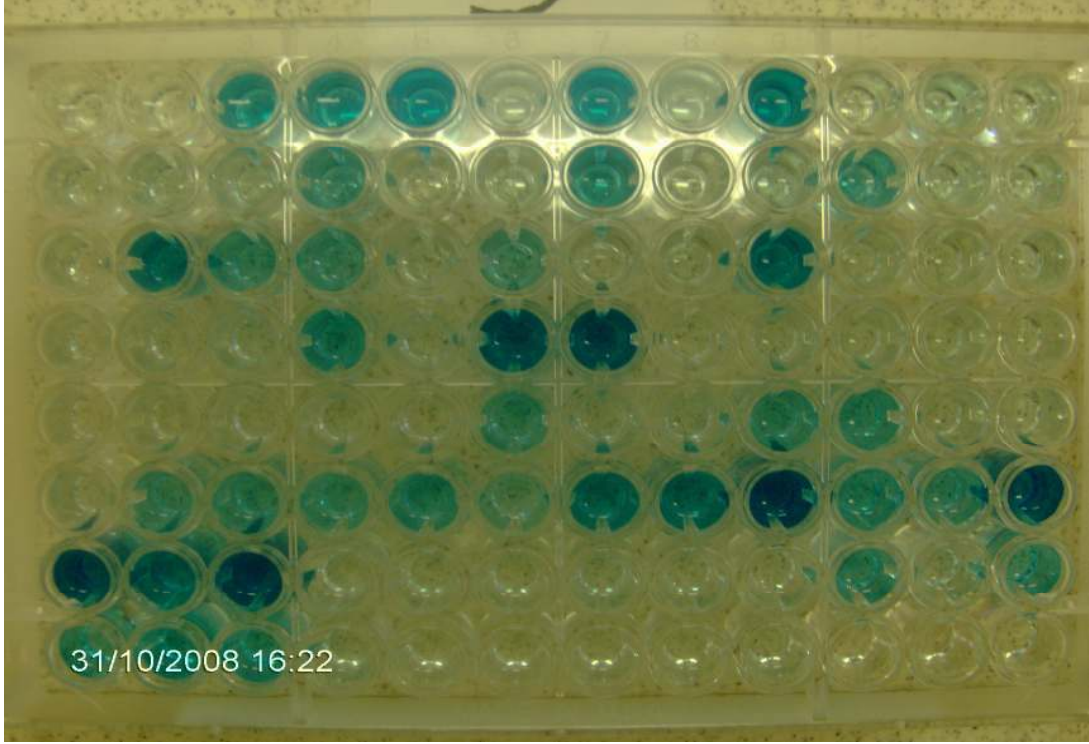
Resim 3.1.a. ALV p27 açısından ELISA test sonuçlarının görüntüleri.



Resim 3. 1. b. ALV p27 açısından ELISA test sonuçlarının görüntüleri.



Resim 3.1.c. ALV p27 açısından ELISA test sonuçlarının görüntüleri.



Resim 3.1.d. ALV p27 açısından ELISA test sonuçlarının görüntüleri.



Resim 3.1.e. ALV p27 açısından ELISA test sonuçlarının görüntüleri.

Çizelge 3.3. incelendiğinde yumurta kalite sonuçlarından yumurta ağırlığı ve şekil indeksi açısından ALV %100 negatif olan kümeslerin istatistiki olarak daha iyi sonuçlar verdiği görülmektedir. Kabuk mukavemeti, kabuk kalınlığı, hağuh birim ve sarı rengi açısından ise ALV %100 negatif ve ALV %100 pozitif olan örnekler arasında istatistiki fark bulunmamaktadır.

Çizelge 3. 3. Yumurta kalite kriteri sonuçları.

	Yumurta Ağırlığı (g)	Şekil İndeksi	Kabuk Mukavemeti (kg/cm ²)	Kabuk Kalınlığı (μ)	Haugh Birimi	Sarı Rengi
Negatif*	63,80 ^a	77,38 ^a	3,42	411,53	73,14	7,21
Pozitif**	54,84 ^b	75,73 ^b	4,01	408,67	74,37	7,71
p	0,0001	0,0113	0,0636	0,6271	0,4973	0,1308
Std. Hata	0,68	0,32	0,15	2,93	0,90	0,16

*: ALV p27 antijeni açısından %100 negatif olan kümesler.

**: ALV p27 antijeni açısından %100 pozitif olan kümesler.



Resim 3.2. Şekil indeksi ölçümü.



Resim 3.3. Kabuk mukavemeti ölçümü.



Resim 3.4. Kabuk kalınlığı ölçümü.



Resim 3.5. Haugh birimi ve sarı rengi ölçümü.

4. TARTIŞMA

Aydın yöresinde yapmış olduğumuz çalışmada materyal olarak halk elinde üretimi yapılan tavuklardan elde edilen yumurta örnekleri test materyali olarak kullanıldı. Crittenden ve ark (1984) ve Fadly (1989); ALV'nin laboratuvar tanısında test materyali olarak kan, plazma, kloakal swab, yumurta albümini ve nadiren de embriyo ve tümör dokuları kullanıldığını belirtmişlerdir. Smith ve ark (1980), Crittenden ve ark (1984), ALSV ile enfekte tavukların, virusu yumurta yolu ile saçtıklarını bildirmişlerdir. Ayrıca yumurtanın albümin bölümünün ise virusu en fazla miktarda içermesinden dolayı virusun izolasyonu ve direkt serolojik testi için yumurta albümini tercih etmenin geçerli bir yöntem olduğunu belirtmişlerdir. Bu sebeple çalışmamızda test materyali olarak yumurta albümini kullanılmıştır.

ALV'nin protein yapısında majör virion antijeni olan p27'nin tespiti, hastalığın tanısında temel kriterlerdendir. Saha enfeksiyonlarında kısa sürede tanıya yönelik materyalde p27'nin ELISA ile tespiti en uygun yöntemlerden birisidir (Smith ve ark 1977, Smith ve ark 1980, Crittenden ve ark 1984). Smith ve ark (1980), Crittenden ve ark (1984) ELISA'nın kolay uygulanabilir olması, kısa sürede sonuç vermesi, duyarlı ve spesifik bir test olması nedenleri ile LL'in geniş kapsamlı saha taramalarında yumurta albümini örneklerinde ALV p27 antijeni tespitinde tercih edilebileceğini bildirmesinden dolayı çalışmamızda ELISA tekniği kullanılmıştır.

Witter (1997) LL'in eradikasyon programlarına rağmen birçok ülkede varlığını sürdürdüğünü bildirmektedir. Sahadaki enfeksiyonda vertikal bulaşmasının yoğun bir şekilde görüldüğünü belirtmektedir. Aynı şekilde Şenköylü (2001)'ye göre de civcivlere dömlü yumurta yoluyla vertikal bulaşmanın önemli olması yanında hastalığın tavuktan tavuğa salya ve dışkı yoluyla bulaşımı da yoğun bir şekilde gerçekleşmektedir. Çalışmamızda pozitiflik görülen kümesler incelendiğinde; pozitiflik içeren kümeslerden toplanan yumurta örneklerinde ALV p27'nin pozitif çıkma oranı % 17 ile % 100 arasında tespit edildi. Kümes

içerisinde %17 gibi düşük oranların çıkması; Crittenden ve ark (1983)'nın 28 farklı broyler işletmeye ait 100'er adet yumurta albümininde Complement fikzasyon yoluyla yaptıkları çalışmada virusun yumurta yolu ile yayılımını en yüksek % 17 olarak bildirmeleriyle açıklanabilir. Bu oranın % 100'lere ulaşması literatürde bildirildiği şekilde vertikal ve horizontal bulaşmanın kümes içerisinde etkili olduğunu göstermektedir. Muhtemelen bu orana 2. , 3. nesil veya daha uzun süreli üretimin devam ettiği kümeslerde ulaşılmıştır. Özbilgin ve ark (2001) ise 3'ü ticari yumurtacı ve 7'si broyler damızlık işletmesi olmak üzere yaptıkları çalışmada ALV p27 antijeni tespit edilen işletmelerde bu oranı % 10 ila % 42 arasında bulmuşlardır.

Bu çalışmada örnekleme yapılan 151 kümesten 110 (% 72,85) tanesinde ALV p27 antijeni saptanarak pozitiflik görülmüştür. Özbilgin ve ark (2001)'nın yumurta albümini örneklerinde ELISA tekniği ile yaptıkları çalışmada ticari ve broyler damızlık işletmelerinde ALV p27 pozitif görölme oranı % 50 (5/10 işletme) olarak tespit edilmiştir. Kontrollü ve hijyenik işletmelerde ki oranın % 50 olması yanında halk elinde yapmış olduğumuz çalışmada % 72,85 tespit edilmesi beklenen bir durumdur. İncelediğimiz kümeslerden elde edilen toplam 585 yumurtanın ise 279 (% 47,69) tanesi ALV p27 antijeni açısından pozitif çıkmıştır. ALV'nin tespitine yönelik ulusal düzeyde saha taraması çalışmalarının az olması ve halk elindeki hayvanlarda daha öncesinde yumurta albüminde ALV p27 tespitine yönelik çalışma yapılmamış olması dağılımı kıyaslama imkanı vermemektedir. Şenköylü (2001)'nün bildirdiği üzere hastalık görülen sürülerde ölüm oranının % 5 ila %40 arasında değişmesi ve ölüm oranının artması sadece elverişsiz koşullar nedeniyle değildir. Aynı zamanda genetik yapıdan da kaynaklanabileceği, bazı yumurtacı soy veya hatların bu hastalığa karşı daha dayanıklı olabileceği ALV p27 oranının % 47,69 olmasına rağmen köylerde tavukçuluğun halen daha sürdürülebildiğini gösterir. Ayrıca Özbilgin ve ark (2001)'na göre 3 adet işletmede ALV p27 antijeni tespit edilmesine rağmen makroskopik ve mikroskopik lezyon görülmemesi, Tsukamoto ve ark (1992)'na göre de ALV enfekte tavukların sadece bir bölümünde LL'in şekillendiğini bildirmeleri, % 47,69 oranına rağmen köylerdeki tavuk varlığının sürdürülebilirliğini açıklamaktadır.

Çalışmamızdaki veriler ilçe bazında incelendiğinde; ALV p27 antijeni içeren kümeslerin % 90,63'e ulaşmış olan Söke'de virus enfeksiyonun bölgenin çoğunluğuna

dağılmış olduğu görülmektedir. En yüksek pozitiflik içeren kümeslerin bulunduğu Söke'de örneklerin % 78,95 (60/70 yumurta) oranıyla en yüksek antijeni içermesi örtüşmektedir. Kuşadası pozitiflik tespit edilen kümes sayısı bakımından % 88,89 ile ikinci sırada olmasına rağmen pozitif örnek sayısının % 48,68 ile 4. sırayı alması henüz kümes içerisinde ALV'nin yayılım göstermediğini belirtir. Pozitiflik içeren kümes sayıları bakımından Çine ve Nazilli'nin % 83,33'le aynı sırayı almalarına rağmen; pozitif örnek sayısının Çine'de daha az olması aynı şekilde kümes içi virus yayılımının Çine'de düşük olduğunu göstermektedir. İncirliova'da hem pozitiflik tespit edilmeyen kümes sayısı (% 40) hem de pozitif örnek sayısı (% 26,32) diğer ilçelere göre hayli düşük çıkmıştır. Daha detaylı çalışmalara ihtiyaç olmasına rağmen İncirliova İlçesinde bulunan Erbeyli İncir Araştırma Enstitüsü, ALV p27 antijeninin düşük çıkmasında etkili olmuş olabilir. Çünkü Enstitü'nün Tavukçuluk Şubesi 2006 yılına kadar kuluçkahanesinde ürettiği civcivlerin satışını yapmaktaydı. Hastalıktan arı civcivlerin halk elindeki dağılımı İncirliova'da diğer ilçelere göre daha fazla olmuştur. Her ne kadar bu civcivler broyler olsa da halk elinde 2. nesilden sonra açılım gösteren tavuklar yumurtacı olarak kullanılabilir. Temiz kaynaktan üretildikleri için Enstitü'ye uzak olan diğer ilçelerdeki tavuklara göre ALV p27 antijenini daha az içerebilirler.

Kabuk mukavemeti, kabuk kalınlığı, haugh birimi ve sarı rengi ile ALV p27 antijeni varlığı arasında istatistiksel olarak bir ilişki tespit edilememiş olması beklenen bir sonuçtur. Bahsi geçen yumurta kalite kriterleri besleme, genetik yapı ve yetiştirme tekniği gibi birçok etmene bağlı olup ALV varlığı ile ilişkilendirilmemiştir. Yumurta ağırlığı ve şekil indeksi ile antijen varlığı arasında istatistiksel önem tespit edilmiştir. ALV p27 antijenini hiç içermeyen kümeslerden toplanan yumurta örneklerinin %100 pozitif olan örneklerle göre daha ağır ve şekil indekslerinin daha iyi olması ALV varlığı ile direkt olarak ilişkilendirilemez. Yumurta kalite kriterleri ile ALV varlığı arasındaki kıyaslamaya olanak sağlayacak çalışmalar daha önceden yapılmamış olup yumurta ağırlığı ve şekil indeksi ile ALV varlığı arasında çıkan istatistiksel ilişki kümesler arasındaki genetik yapı ve yemleme şekline kaynaklanabilir. Ancak daha ağır ve şekil indeksi yüksek olan yumurtaların daha kaliteli olduğunu kabul edersek kaliteli yumurta üretme hedefinde olan üreticilerin hijyen ve sanitasyona diğerlerine göre daha çok dikkat ettiğini düşünebiliriz. Hijyen ve sanitasyon da ALV varlığını azaltan etmenlerdendir. Daha sonra yapılacak çalışmalarla; bu ilişkinin, kontrollü kümeslerde ve eşit şartlar altında incelenmesi yararlı olacaktır.

5. SONUÇ

Sonuç olarak tavukların önemli neoplastik hastalıklarına sebep olan ALV enfeksiyonunun Aydın yöresindeki halk elinde yetiştirilen tavuklardaki yayılımı tespit edildi. Bu yayılımın tespiti için, yumurta albüminlerinde ki ALV p27 antijeninin varlığı ELISA tekniği ile ortaya kondu. Aydın yöresinde ki kümeslerde % 72,85 (110/151 kümes) oranıyla ALV enfeksiyonunun geniş çapta yayılım gösterdiği tespit edildi. Yöreden toplanan örneklerin % 47,69 (279/585)'unda ALV p27 antijeninin tespit edilmiş olması etkenin yaygınlığını göstermektedir. Bu nedenle yörede ALV enfeksiyonuna karşı tedbirler alınması gerekmektedir. Yumurta kalite kriterlerinden kabuk mukavemeti, kabuk kalınlığı, haugh birimi ve sarı rengi ile ALV varlığı arasında bir ilişki bulunmazken, ALV p27 antijeni açısından %100 negatif olan kümeslerde yumurta ağırlığı ve şekil indeksi daha yüksek tespit edilmiştir. Bu konuda yapılacak yeni çalışmalarla, yöredeki ALV'nin ortaya çıkardığı hastalıklar ve çözüm önerilerine önem verilmesi gerektiği görüşüne varıldı.

ÖZET

Avian Leucosis Virus Enfeksiyonun Halk Elindeki Kümeslerde Antijenik Olarak Araştırılması

Bu çalışmada, tavuklarda neoplastik hastalıklara neden olan ALV enfeksiyonun Aydın yöresindeki dağılımını ELISA yöntemi ile tespit etmek amaçlandı. ELISA sonuçları ile yumurta kalite kriterleri arasındaki ilişki araştırıldı. Örneklem, ilin farklı

yöneylerindeki ilçelerden halk elinde üretimi yapılan tavukların yumurtaları toplanarak yapıldı.

Altı farklı ilçedeki 151 kümeden toplanan 585 yumurtanın albüminleri ALV p27 grup spesifik antijeni yönünden test edildi. İncelenen 151 kümeden 110 tanesinde ALV p27 antijeni saptandı. Kümeslerdeki ALV p27 antijeni pozitiflik oranı % 17 ile % 100 arasında görüldü. Toplam örneklerde ki ALV enfeksiyon oranı % 47,69 (279/585 yumurta) olarak bulundu. ALV p27 antijeni açısından pozitiflik tespit edilen kümeslerin ilçeler bazındaki dağılımı incelendiğinde en düşük oran İncirliova’da % 40 (14/35 kümes), en yüksek oran ise Söke’de % 90,63 (29/32 kümes) olarak tespit edildi. ALV p27 antijeni bulunmayan kümeslerdeki örneklerin yumurta ağırlığı ve şekil indeksi daha yüksek ölçüldü. Hastalık etkeninin bu derece yaygın olması hastalığın teşekkül edip etmediğinin araştırılmasını ve eradikasyon için tedbirlerin alınması gerekliliğini ortaya çıkarmaktadır.

Anahtar kelimeler: Avian leucosis, ELISA, p27 antijeni.

SUMMARY

Research on Antigenic Detection of Avian Leucosis Virus Infection From Back Yards Poultry

In the present study, it was aimed to determine the spread of ALV infection which inducing neoplastic diseases in laying hens with ELISA method around the Aydın region. The relation between ELISA results and egg quality criterions was investigated. Eggs of domestic fowls were sampled from different localizations of several provinces.

The albumen of 585 randomly selected eggs sampled from 151 pens at six different provinces were tested for group of ALV p27 specific antigen. The proportion of pens which defined as positive for ALV p27 range between 17 to 100%. ALV infection rate for all eggs tested was 47,69 % (279 eggs of 585 total eggs tested). When examined the spread of pens based on provinces as positive for ALV p27 antigens, the lowest value was determined in İncirliova with 40 % (14 of total pens examined), where as the highest percentage value with 90- 63 % recorded in Söke (29 of total pens surveyed). These findings clearly demonstrated that disease agents of ALV are widespread throughout the field surveyed. Egg weight and shape index of sample was defined as negative for ALV p 27 antigen higher than positive ones. Hence, further researches are needed whether the disease has been occurred or not and also preventive measures should be taken in order to eradication of the disease.

Keywords: Avian leucosis, ELISA, p27 antigen

KAYNAKLAR

Açıkgöz Z, Özkan K (1996) *Yumurta tüketiminin beslenme ve sağlık üzerine etkisi*, Hayvancılık'96 Ulusal Kongresi, 18-20 Eylül, İzmir, Bildiriler, s: 305-311.

Anonim (1998) *Quality of eggs and egg products*, Poultry International, pp:14-24.

Anonim (2003) *Türk Gıda Kodeksi, Sporcu Tebliği*. 25 308 Sayılı Resmi Gazete.

Besd-Bir (2003) *Beyaz Et Sanayicileri ve Damızlıkçıları Birliği İstatistik Raporları*, Ankara.

Biggs PM, Payne LN (1964) *Relationship of Marek's Disease (neural lymphomatosis) to lymphoid leukosis*, Natl Cancer Inst 17: 83-98.

Burmester BR, Gross MA, Walter WG, Fontes AK (1959) *Pathogenicity of a viral strain (RPL12) causing avian visceral lymphomatosis and related neoplasms*, II. Hostvirus interrelations affecting response, Natl Cancer Inst 22: 103-127.

Calnek BW (1968) *Lymphoid leukosis virus: a survey of commercial breeding flocks for genetic resistance and incidence of embryo infection*, Avian Diseases 12: 104-111.

Crittenden (1981) *Exogenous and endogenous leukosis virus genes*, Avian Pathology, 10: 101-112.

Crittenden LB, Okazaki W, Smith EJ (1983) *Incidence of avian leukosis virus infection in broiler stocks and its effect on early growth*, Poultry Sci, 62: 2383-2386.

Crittenden LB, Smith EJ, Okazaki W (1984) *Identification of broiler breeders congenitally transmitting avian leukosis virus by enzyme-linked immunosorbent assay*, Poultry Sci, 63: 492- 496.

Çelik V (2005) *Kanatlı Sağlığına Yönelik Temel İlkeler ve Uygulamalar*, 1. Baskı, Bey Ofset Matbacılık Ltd. Şti., s: 236-237, Ankara.

Dougherty RM (1961) *Heat inactivation of Rous sarcoma virus*, Virology 14: 371-372.

Erener G, Sarıçiçek Z, (1997) *Yumurta tavuklarında kalsiyum metabolizması ve yumurta kabuğu oluşumu*, Uluslararası Tavukçuluk Fuarı ve Konferansı, 14-17 Mayıs, İstanbul, Bildiriler, s:260-268.

Fadly AM (1989) *Leukosis and sarcomas*, Purchase HG, Arp LH, Domermuth CH, Pearson JE (eds), In "A Laboratory Manual for the Isolation and Identification of Avian Pathogens", 3th Ed., AAAP, Kendal/Hunt Publishing Co., pp: 135-142, Dubuque, Iowa.

FAO (2008) Web sitesi <http://www.Fao.org>. Erişim Tarihi: 11.07.2008.

Fraser AC, Bain MM (1994) *A Comparison of eggshell structure from birds housed in conventional battery cages and in A modified free- range system*. Proceedings 9 Th European Poultry Conference, 7-12 Agustost 1994, Glasgow. U.K., No Volume 1. pp:151-152.

Friesen B, Rubin H (1961) *Some physicochemical and immunological properties of an avian leukosis virus*, Virology 15: 387-396.

Hanafusa T, Hanafusa H, Miyamota T (1970) *Recovery of a new virus from apparently normal chicken cells by infection with avian tumor viruses*, Proc Natl Acad 67: 1797-1803.

Hughes BO, Dun P (1983) *Production and behavior of laying domestic fowls in outside pens*, Applied Animal Ethology, 11 (2) pp: 201.

Levendecker M, Hamann H, Hartung J, Kamphues J, Ring C, Glunder G, Ahlers C, Sander I, Neumann U, Distl O (2001) *Analysis of Genotype-Environment Interactions Between Layer Lines And Housing Systems For Performance Traits, Egg Quality and Bone Breaking Strength*, 2nd Communication: Egg Quality Traits. Züchtungskunde, 73 (4) pp:308-313.

Matthews REF (1982) *Classification and nomenclature of virus*,. Fourth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses, Intervirology 17: 1-3.

Morgan HR (1973) *Avian leukosis-sarcoma virus antibodies in wildfowl, domestic chickens and man in Kenya*, Proc Soc Exp Biology Medicine 144: 1-4.

Mostert BE, Bowers EH, Van Der Walt JC, (1995) *Influence of Different Housing Systems on The Performance of Hens of Four Laying Strains*, South Africa J. Animal, 25 (3): 80-86.

Okazaki W, Purchase HG, Crittenden LB (1982) *Pathogenicity of avian leukosis viruses*, Avian Diseases 26: 553-559.

Özbilgin S, Şen S, Ülgen M, Çarlı KD, Sönmez G, Özmen Ö (2001) *Tavuklarda Lenfoid Leukozis (LL) Hastalığının ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) ve Marek Hastalığının (MD) IF (Immunoflorasan) Tekniği ile Tanısı*, Turk J Vet Anim Sci., 25: 839-846, TÜBİTAK.

Pavlovski Z, Hopic S (2001) *Housing Systems For Layer And Egg Quality*, Biotechnology-in- Animal-Husbandry, 17 (5-6): 197-201.

Payne LN (1998) *Retrovirus-induced disease in poultry*, Poult. Sci., 77: 1204-1212.

Payne LN, Bumstead N (1982) *Theoretical consideration on the relative importance of vertical and horizontal transmission for the maintenance of infection by exogenous avian lymphoid virus*, Avian Pathol 11: 547-553.

Payne LN, Holmes AE, Howes K, Pattison M, Pollock DL, Walters DE (1982) *Further studies on the eradication and epizootiology of lymphoid leukosis virus infection in commercial strain chickens*, Avian Pathol 11: 145-162.

Payne LN, Purchase HG (1991) *Leukosis/Sarcoma Group*, Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW, Reid WM, Yoder HW (eds), Jr. Diseases of Poultry, 9th ed., Iowa State University Press, pp: 386-439, Ames, Iowa.

Piraino F (1967) *The mechanism of genetic resistance of chick embryo cells to infection by Rous sarcoma virus-Bryan strain (BS-RSV)*, Virology 32: 700-707.

Robinson WS, Duesberg PH (1968) *The myxoviruses*, Molecular Basis of Virology, Fraenkel-Conrat H (eds), s: 306-310, Reinhold Book, New York.

Rubin H, Cornelius A, Fanshier L (1961) *The pattern of congenital transmission of an avian leukosis virus*, Proc Natl Acad Sci 47: 1058-1060, USA.

Rubin H, Fanshier L, Cornelius A, Hughes, WF (1962) *Tolerance and immunity in chickens after congenital and contact infection with an avian leukosis virus*, Virology 17: 143-156.

Sandelin K ve Estola T (1974) *Occurrence of different subgroups of avian leukosis virus. in Finnish poultry*, Avian Pathol 3: 159-168.

Smith E, Crittenden LB, Ignjatovic J (1977) *Comparative study of three methods for detecting avian leukosis viruses*, Infec Immun, 16: 500-504.

Smith EJ, Fadly A, Okazaki W (1980) *An enzyme-linked immunosorbent assay for detecting avian leukosis-sarcoma viruses*, Avian Diseases, 23: 698-707.

Spencer JL, Crittenden LB, Burmester BR, Okazaki W, Witter RL (1977) *Lymphoid leukosis: Interrelations among virus infections in hens, eggs, embryos and chicks* Avian Diseases, 21: 331-345.

Şekeroğlu A (2002) *Serbest yetiştirme (Free Range) sisteminin beyaz ve kahverengi yumurtacı genotiplerin yumurta verimi ve kalitesine etkileri*. Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.

Şengül S (2004) *Türkiye’ de gelir gruplarına göre gıda dağılımı*, ODTÜ GelişmeDergisi, 31, 115–148.

Şenköylü N (2001) *Modern Tavuk Üretimi*, (Gözden Geçirilmiş ve Genişletilmiş) 3. Baskı, Anadolu Matbaası, s: 335-342, Tekirdağ.

Toprak İ, Şentürk Ş, Yüksel B, Özer H, Çakır B ve Bideci E (2002) *Toplumun Beslenmede Bilinçlendirilmesi*, Saha Personeli İçin Toplum Beslenmesi Programı Eğitim Materyali, Ankara.

Timoney JF, Gillespie JH, Scott FW, Barlough JE (1988) *Hagan and Bruner's Microbiology and Infectious Diseases of Domestic Animals*. 8th ed., Comstock Pub. Assoc, p: 856-860, Ithaca and London.

Tsukamoto K, Hasebe M, Kakita S, Taniguchi Y, Hihara H, Kono Y (1992) *Sporadic congenital transmission of avian leukosis virus in hens discharging the virus into the oviducts*, J. Vet. Med. Sci. 54: 99-103.

Vogt PK (1965) *Avian tumor viruses*, Adv Virus Res 11: 293-385.

Weiss RA (1973) , Nakahara W, Hirayama T, Nishioka K, Sugano H (eds), *Analytic and Experimental Epidemiology of Cancer*, University of Tokyo Press, Tokyo, pp: 201-233.

Witter RL (1997) *Avian tumor viruses: persistent and evolving pathogens*, Acta Vet. Hungarica, 45: 251-266.

Yardımcı H (2002) *Neoplastik Hastalıklar*, İzgür M, Akan M (edt), Kanatlı Hayvan Hastalıkları, MEDİSAN, Yayın No: 50, s: 195-226, Ankara.

Zrodzowski Z, Celej A, Czepiel K (1994) *Content Of Some Heavy Metal In Hen Eggs*, Technologia Żywności, 6: 231-238.

ÖZGEÇMİŞ

Araştırmacı 1979 yılında Burdur’da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Denizli, Acıpayam’da tamamladı. Erzincan Laborant Meslek Lisesi’nden 1995 yılında, İnönü Üniversitesi Gıda Mühendisliği bölümünden ise 2001 yılında mezun oldu. Malatya Meyvecilik Araştırma Enstitüsü’nde 1996 –2001 yıllarında Laborant olarak görev yaptıktan sonra 2001 yılından 2004 yılına kadar aynı kurumda Gıda Mühendisi olarak çeşitli araştırma projeleri yürüttü. 2004 yılından itibaren Erbeyli İncir Araştırma Enstitüsü’nde Tavukçuluk Şubesi ve İncir Şubesi Laboratuvarlarının sorumlusu olarak görev yapmaktadır. Tavukçuluk Şubesi ve İncir Şubesinde çeşitli araştırma projelerinde görev almakta ve projeler yürütmektedir. Evli ve bir çocuk babasıdır.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimi süresince desteklerini gördüğüm danışmanım Doç. Dr. Tolga TAN’a, Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Osman KAYA’ya, Bölüm

hocalarından Doç. Dr. Şükrü KIRKAN'a, bölüm asistanlarından Sertan TEKBIYIK ve Uğur PARIN'a teşekkür ederim. Yüksek lisans programı esnasında desteklerini esirgemeyen Erbeyli İncir Araştırma Enstitüsü yöneticilerine, Enstitü çalışanlarından Dr. İlknur KÖSOĞLU, Doç. Dr. Mehmet BOZKURT, Dr. Ferit ÇOBANOĞLU, Mustafa ÇINAR, Aytekin BELGE, Eşref TUTMUŞ, Nilgün TAN, A. Uğur ÇATLI ve yardımı dokunan tüm teknik personele şükranlarımı sunarım. Dr. Engin TAN ve Mustafa KÖSOĞLU'na teşekkürlerimi bildiririm. Çalışmalarım sırasında beni yalnız bırakmayan eşim ve kızıma her zaman desteklerini gördüğüm annem ve babama teşekkürlerimi sunarım.