



**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MB- YL- 2006- 0001**

**Broyler Piliçlerde Gumboro Aşlamalarının
ELISA ile Antikor Seyrinin Takibi**

**HAZIRLAYAN
Vet. Hek. Meltem YILMAZLAR**

**DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. M. Tolga TAN**

AYDIN - 2006

**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MB-YL-2006-0001**

**Broyler Piliçlerde Gumboro Aşılamlarının
ELISA ile Antikor Seyrinin Takibi**

**HAZIRLAYAN
Vet. Hek. Meltem YILMAZLAR**

**DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. M. Tolga TAN**

AYDIN-2006

İÇİNDEKİLER

ÖZ	I
ABSTRACT	II
ÇİZELGELER LİSTESİ	III
ŞEKİLLER LİSTESİ	IV
KISALTMALAR VE SİMGELER	V
1. GİRİŞ	1
2. KONU İLE İLGİLİ ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	2
3. MATERYAL VE METOT	15
3.1. Cıvıv Materyali	15
3.2. Örneklemeler	15
3.3. Aşılar ve Aşılama Programı	15
3.4. Serolojik Kontrol	15
3.5. Sonuçların yorumlanması	17
3.6. Antikor titresinin hesaplanması	17
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	18
4.1. Bulgular	18
4.1.1. Klinik Gözlem	18
4.1.2. Serolojik Bulgular	18
4.2. Tartışma	21
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	24
ÖZET	25
SUMMARY	26
TEŞEKKÜR	27
KAYNAKLAR	28
ÖZGEÇMİŞ	41

ÖZ

Bu araştırmada, 53.040 broyler civciv (Ross 308), Gumboro aşısı (içme suyu) (Vineland) ile 8 ve 16. günlerde aşılandı. 1, 8, 15, 22, 29, 36, 43 ve 50. günlerde antikor titreleri ELISA ile tespit edildi. Civcivlerdeki antikor titreleri sırasıyla 2636, 484, 212, 295, 1106, 4214, 3261 ve 4397 olarak bulundu.

Araştırmanın yapıldığı çiftlikte hastalığın görülme zamanının 17-40. günler olduğu göz önünde tutulduğunda, elde edilen antikor titrelerinin 22-29. günlerde düşük olduğu gözlemlenmiştir. Antikor titreleri düşük olmasına rağmen hastalığa karşı koruma sağlanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: İnfeksiyöz Bursal Hastalık, Broyler, Aşı, ELISA

ABSTRACT

In this study, 53,040 broiler hens (Ross 308) were immunized with Gumboro (drinking water) vaccine (Vineland) in 8 and 16 day age. Antibody titers were determined by ELISA 1, 8, 15, 22, 29, 36, 43 and 50 day. Antibody titers for chickens were found 2636, 484, 212, 295, 1106, 4214, 3261 and 4397, respectively.

As the infection was observed in the broiler farm between 17 and 40 days, the antibody titres obtained from the samples were low between 22 and 29 days. Although the antibody titres were found to be low, an immunological defense was observed.

Key Words: Infectious Bursal Disease, Broiler, Vaccine, ELISA

ÇİZELGELER LİSTESİ

Tablo 1	Sürünün her kan alımında elde edilen serumların IBDV, IB ve ND için yapılan ELISA test titreleri sürü ortalama sonuçları.	19
Tablo 2	Sürünün her kan alımı dönemine ait IBDV ile ilgili ELISA test sonuçları.	20

ŞEKİLLER LİSTESİ

Grafik 1	IBD, IB ve ND Antikor Titrelerinin Çıkımdan Kesime Kadar Seyri	19
Şekil 1	İncelenen örneklerin, ND açısından ELISA test sonuçları 1	42
Şekil 2	İncelenen örneklerin, ND açısından ELISA test sonuçları 2	42
Şekil 3	İncelenen örneklerin, IB açısından ELISA test sonuçları 1	43
Şekil 4	İncelenen örneklerin, IB açısından ELISA test sonuçları 1	43
Şekil 5	İncelenen örneklerin, IBV açısından ELISA test sonuçları 1	44
Şekil 6	İncelenen örneklerin, IBV açısından ELISA test sonuçları 1	44
Şekil 7	Araştırmada kullanılan ELISA test kitlerinin görünümü	45

KISALTMALAR VE SİMGELER

IBD	Infectious Bursal Disease
IBDV	Infectious Bursal Disease Virus
VN	Virus Nötralizasyon
FAT	Flöresan Antikor Testi
ETY	Embriyolu Tavuk Yumurtası
AGP	Agar Jel Presipitasyon
AC-ELİSA	Antigen-capture ELISA
RT-PCR	Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
ND	Newcastle Disease

1. GİRİŞ

Türkiye’de kanatlı sektörünün yıllık cirosu 2,5 milyar Amerikan Doları olup, gayri safi milli hasılanın %1,7’ sini oluşturmaktadır.

Enfeksiyöz hastalıklar içerisinde İnfeksiyöz Bursal Hastalığı (IBH, Gumboro hastalığı) son yıllarda etkili mücadele (biyogüvenlik, aşılama vs.) ile klinik formda görülen ölümlerden kaynaklanan ekonomik zararları azaltılmış olmakla birlikte subklinik formu halen sektörde yaygın olarak görülmektedir. Bunda yıllarca bilinçsizce ve programsız *hot IBDV aşı* kullanımının etkisi fazladır. Hot aşılardan iyi bir sellüler bağışıklığın yanı sıra saha suşu kadar olmasa da güçlü bir immünosupresif etkisi bulunmaktadır. Bu aşılarda hastalığın klinik formu kontrol altına alınmıştır. Ancak kullanımına devam edilmesi ve önceki kullanımlarının kümes florasında bulunması sebebiyle etkisi hala sürmektedir.

Bu çalışmada, *intermediate* bir IBD aşısı ile aşılama programı düzenlenmiş, civcivin 1. gününden itibaren periyodik olarak kesime kadar kanı alınarak ELİSA ile antikor ölçümleri yapılmıştır. Hastalık görülmemiş bir işletmede bu aşılama ile oluşan humoral bağışıklığın kontrollü şartlarda izlenmesi amaçlanmıştır.

2. KONU İLE İLGİLİ ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

İnfeksiyöz bursal hastalık (*Infectious bursal disease*, IBD) veya Gumboro Hastalığı infeksiyöz bursal hastalık virusu (IBDV) tarafından meydana getirilen, 3 haftalıktan büyük piliçlerde akut seyreden, çok bulaşıcı viral bir hastalıktır. Yüksek düzeyde mortalite ile seyreden IBD, hastalığı geçiren piliçlerde immunsupresyona, sekonder enfeksiyonlara ve aşılama ile oluşturulan bağışıklık düzeyinin düşük olmasına sebep olmaktadır. IBDV birçok ülkede kanatlı sektöründe endemiler oluşturan zarfsız bir virustur. Virus dezenfektanlara karşı uzun süre dirençlilik gösterebilme özelliğine sahiptir. Etken, eter ve kloroform ile muameleye dirençli bulunmuş, pH 12'de inaktive edilmiş, pH 2'de etkilenmemiştir. 6°C'de 5 saat, 60 °C'de 30 dakika canlılığını korur. Virus, 30°C'de 1 saat süreyle % 0.5'lik fenol ve % 0.125'lik thimerosaldan etkilenmemiştir. Virus infektivitesinde 6 saat boyunca % 0.5'lik formalin uygulandığında önemli bir azalma gözlenmiştir. Buna karşın formalin, kloramin ve iyot bileşikleri IBDV'ye etkin bulunmuştur (Akan, 2002; Lukert ve Saif, 1997).

Piliçler, IBD hastalığının klinik formunun ve karakteristik lezyonlarının görüldüğü türlerin başında gelir. Hindiler, ördekler ve deve kuşları IBD'ye duyarlı olmalarına rağmen klinik olarak direnç gösterirler (Lukert ve Saif, 1997; McNulty ve ark., 1979).

IBD ilk kez Cosgrove (1962) tarafından, böbreklerde yaptığı hasar sebebiyle *avian nephrosis* olarak tanımlanmıştır. 1970 yılında avian nephrosisli bir tavuğun böbreğinden Gray suşu izole edilmiştir (Akan, 2002). Başlangıçta bu suşun IBDV enfeksiyonunun etkeni olduğu zannedilirken, daha sonraki çalışmalarda Gray suşu ile immunize edilen deneme hayvanlarının enfeksiyöz bursal ajan ile enfekte oldukları ve Bursa fabricius'larında değişiklikler olduğu gözlenmiştir. Böylece Gray virusunun böbreklerde nefrotoksik etki yapan *Enfeksiyöz Bronşit Virus* olduğu, Gumboro hastalığını meydana getiren virusunsa bundan farklı olduğu kabul edilmiştir. Hastalık ilk defa A.B.D.'de Delaware'de Gumboro bölgesinde görüldüğü için *Gumboro Hastalığı* denmiştir.

Aile	Cins	Tür	Sinonim
Birnaviridae	Aquabirnavirus	İnfectious pancreatic necrosis virus	IPNV
	Avibirnavirus	İnfectious bursal disease virus	IBDV
	Entomobirnavirus	Drosophila X virus	DXV

IBDV *Birnaviridae* familyasının *Avibirnavirus* cinsinin bir üyesi olup çift iplikçikli iki RNA segmentine (A ve B) sahiptir (Murphy ve ark., 1995). IBDV izolatları incelendiğinde antijenik özellikleri birbirinden farklı iki serotipin varlığı belirlenmiştir. Serotip 1 ve serotip 2 olarak tanımlanan bu suşlar, virus nötralizasyon (VN) testi ve elektroforetik olarak birbirlerinden ayrılırken, floresan antikor testi (FAT), agar jel presipitasyon (AGP) ve ELISA ile ayrılamazlar. Virus genomu 5 viral polipeptid içerir. A segmenti VP2-5, B segmenti VP1 ile kodlanır. VP2 ve VP3 viriondaki en büyük yapısal proteinlerdir. Bu nedenle VP2, kanatlıların koruyucu bağışıklığında en çok tercih edilen proteindir. VP1 proteini yaklaşık olarak 90 kD, VP2-5 proteinleri yaklaşık olarak sırasıyla 41 kD, 32 kD , 28 kD ve 21 kD moleküler ağırlığına sahiptirler (Akan, 2002; Lukert ve Saif, 1997).

Birnavirus'ların replikasyonu ile ilgili biyokimyasal olaylar hakkında çok az şey bilinmektedir. Virusun tavuk embriyo böbrek hücrelerine inokulasyonundan 75 dakika sonra tutunduğu gösterilmiştir. Tavuk embriyo hücrelerinde virusun çoğalma siklusu 10-36 saattir ve latent periyod 4-6 saattir. Vero ve BGM-70 hücrelerinde daha uzun (48 saat) bir çoğalma siklusu bildirilmiştir. Viral polipeptidler, in vitro olarak üretilen tavuk bursal lenfoid hücrelerinde ve kültür ortamlarında, enfeksiyondan sonra sırasıyla 90 dakika ve 6 saatte saptanmıştır (Akan, 2002; Lukert ve Saif, 1997).

Virus, kanatlı ve memeli eritrositlerini hemaglutine etme özelliğine sahip değildir. IBDV'unu embriyolu tavuk yumurtasında (ETY) ve doku kültüründe üretmek mümkündür. İzolasyonda kullanılacak ETY'lerinin IBD yönünden aşısız ve hastaliksız tavuklardan elde edilmesi oldukça önemlidir. Virusu üretmede inokulasyon için ETY'lerinin koriyo allantoik membran en duyarlı, yumurta sarısı orta ve koriyo allantoik boşluk ise az duyarlıdır. Virus izolasyonu amacıyla

kullanılan embriyolu yumurtaların embriyolarında, inokulasyondan sonra 3 günden 5. güne kadar ölümler görülür. Embriyoda gözlemlenen makroskopik lezyonlar, abdominal bölgenin ödematöz şişkinliği, kutanöz konjesyon ve özellikle de tüy kanalları boyunca şekillenen peteşiyal kanamalar, ayak eklemlerinde ve serebral bölgede nadir olarak görülen kanamalar, karaciğerde benekli görünümlü nekroz ve ekimotik kanamalar, kalbin yarı pişmiş görünüm alması, böbreklerde benekli nekroz ve konjesyon, akciğerlerin aşırı konjesyonu ve nadiren küçük nekrotik odaklı, solgun dalaktır. CAM'da plaklar bulunmaz ancak bazen hemorajik alanlar gözlenebilir. IBDV varyantları tarafından embriyolarda oluşturulan lezyonlar standart izolatlar tarafından oluşturulanlardan farklılık gösterir. Varyant suşlar, dalakta büyümeye ve karaciğerde nekroza neden olur, ancak embriyolardaki mortalite düşüktür (Akan, 2002; Lukert ve Saif, 1997).

Subünit aşılar VP2'yi içerirken, canlı rekombinant vektörel viral aşılar sadece VP2'yi veya diğer viral proteinlerle yapılan kombinasyonları içermektedirler (Bayliss ve ark., 1991; Darteil ve ark., 1995; Fahey ve ark., 1989; Hein ve Boyle, 1993).

IBDV özellikle civcilerde ve genç piliçlerde çok yaygın olarak enfeksiyon oluşturmaktadır. Özellikle aşılanmamış çiftliklerde virus ölümlere ve immunsupresyona sebebiyet vermektedir. IBD virusunun kanatlı sektöründeki kayıpları daha çok immunsupresif etkisinden kaynaklanmaktadır. İmmunsupresif çiftliklerdeki performans gelişmeleri zayıf olmakta ve ekonomik kayıpları artırmaktadır (Lasher ve Shane, 1994; Lukert ve Saif, 1997).

Normal koşullar altında, enfeksiyon en çok oral yol ile sekillenir. Viruslar bağırsaklardan fagositik hücreler ile diğer doku ve hücrelere taşınırlar. Enfeksiyonun ilk birkaç saati içinde viral antijen karaciğer ve böbreklerde tespit edilmiştir. Viral replikasyon öncelikle Bursa Fabricius'ta sekillenir (Akan, 2002). IBDV'nin replikasyon için temel hedef organı bursa Fabricius ve özellikle B lenfositlerdir (Chettle ve ark.,1989; Kibenge ve ark.,1988). Enfekte bursa Fabricius'ta genellikle yangı, hemoraji, lenfositolizis ve organın atrofisi görülmektedir (Van den Berg,

2000). IBDV ile enfekte piliçlerde her iki humoral ve sellüler immunitede baskılanma görülmektedir (Confer ve ark., 1981; Dohms ve Jaeger,1998; Panigrahy ve ark., 1982). In-vivo ve In-vitro çalışmalarda (Ivanyi ve Morris, 1976; Kaufer ve Weiss, 1980) virusun IgM karakterli B lenfositlere duyarlılık gösterdiği ortaya çıkarılmıştır. Virus bursa fabriciusdaki hücrelere ve bursal foliküllere hızla yayılır. Virusun replikasyon için, lenfoid hücreler ve foliküllerin kortikal bölgelerine ihtiyacı bulunmaktadır (Tanimura ve Sharma, 1997). Virusun akut litik fazı IgM⁺ hücrelerin dolaşımında azalması ile ortaya çıkmaktadır (Rodenberger ve ark., 1994) . T lenfositler IB hastalığına ve virusa dirençlidirler. Enfeksiyonunun akut döneminde, timusta atrofi ve timus hücrelerinde büyük çaplı bir apoptosis görülmemesine rağmen, virusun timus hücrelerinde replikasyonu ile ilgili hiçbir kanıt bulunmamaktadır. Timusun fiziksel olarak büyümesi ve mikroskopik lezyonların görülmesi kısa sürede gerçekleşir. Ancak virus enfeksiyonu seyreden birkaç gün içerisinde normal pozisyonuna geri dönmektedir (Sharma ve ark. 1989) .

IB hastalığı piliçlerde immunsupresyon ile sonlanmaktadır. Virus çiftliğe girdikten 2-3 hafta sonra immunsupresif etkiler görülmeye başlamaktadır (Allen ve ark., 1972). Hastalığın bu etkisi çiftliklerde farklı şekillerde kendini göstermektedir. Özellikle üretim performansının düşmesi başta gelmektedir. Ayrıca sekonder enfeksiyonların artması, yemden az yararlanma, aşılamalardan sonra zayıf bağışıklık elde edilmesi gibi etkilerde görülmektedir (Giambrone ve ark., 1977; Kim ve ark., 1999).

Türkiye’de enfeksiyonun varlığına ait ilk rapor Kandil tarafından bildirilmiştir. Araştırmacı Çukurova bölgesinde broyler ırkı piliçlerde IBDV enfeksiyonun seyrettiğini ve otopside but ve göğüs kaslarında ağır kanamalar ile bursa Fabricius’ta büyüme şekillendiğini ve bu vakalardan virusu izole ettiğini bildirmiştir (Kandil, 1978). Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda Türkiye’nin muhtelif bölgelerinde IBDV’u izole edilmiştir (Ergün, 1989). Sero-sürvey çalışmaları ile Konya çevresindeki aşısız kümeslerde IBDV’una karşı %31.3 oranında seropozitiflik tesbit edilmiştir (Baysal ve Bozkır,1989).

IBDV partikülleri zarfsız, ikosahedral kapside sahip ve yaklaşık 60nm.çapındadır.Çift iplikçikli olup iki RNA segmentine sahiptir (Müler ve ark., 1979). Yeni bir virus familyası olan Birnaviridae'nin (Dobos ve ark.,1979) tek üyesi olan Birnavirus içinde yer almaktadır (Leong ve ark., 2000). Temel olarak A ve B olmak üzere iki genom segmenti bulunmuştur (Mundt ve ark.,1995). Bu segmentler üzerinde çeşitli işlevlere sahip viral proteinler yer almaktadır. Bunlar major proteinler: VP2 , VP3 ve minör proteinler: VP1,VP4 olarak ayrılmaktadır

VP1; viral RNA polimeraz olarak virionda az miktarda bulunur. Serbest poliprotein ve genoma bağlı poliprotein olarak bulunur (Kibenge ve Dhama,1997; Müller ve Nitschke, 1987). Viral partiküllerin enkapsidasyonunda anahtar rol oynamaktadır (Lombardo ve ark., 1999).

VP2; antikorların nötralizasyonunu uyaran ve serotip spesifiteyi sağlayan antijenik bölgeler içerir (Fahey ve ark., 1989). Yüksek düzeyde hidrofobik olup tüm nötralize edici monoklonal antikorların immunopresipitasyon reaksiyonlarında gözlenebilir. Fakat Western Blotta gözlenmez (Oppling ve ark., 1991a; Schnitzler ve ark.,1993; Van den Berg ve ark., 1996).

VP3; nötralize etmeyen antikorlar tarafından grup spesifik antijen olarak tanınır ve her iki serotip 1 ve serotip 2 içinde kros reaksiyon verir (Becht ve ark.,1988; Opling ve ark., 1991a).

VP4; küçük ve yapısal olmayan bir polipeptiddir.Viral proteaz olarak VP2a,VP3 ve VP4'ün üretilmesini sağlar (Azad ve ark., 1987). Bilinen diğer protezlar ile küçük benzerlikler göstermesine rağmen , spesifik proteolitik aktivitesi tesbit edilmiştir (Hudson ve ark., 1986).

VP5; ilk kez IPNV (infectious pancreatic necrosis virus) partiküllerinde tanımlanmıştır (Haverstein ve ark., 1990). Yapılan çalışmalarda IBDV ile enfekte hücrelerde identifiye edilmiştir (Mundt ve ark., 1995). Viral yapıya katılımı ile ilgili bir bilgi yoktur. Bu viral protein daha çok düzenleyici fonksiyona sahip olup virusun

içinde bulunduğu hücreyi patlatıp dışarı salınımı ve yayılmasında anahtar rol oynamaktadır (Mundt ve ark., 1997).

Apatojenik (Serotip 2) mortalite (-) bursal lezyon (-)

Patojenik (Serotip 1)

- Mild mortalite (-) artan bursal lezyon
- İntermediate
- İntermediate Plus
- Klasik artan mortalite
- Varyant
- Very veya hipervirulent

IBDV'nin virus nötralizasyon testi tarafından iki serotipi belirlendi. Serotip 1 patojenik suşu içermektedir. Serotip 2 hindilerden izole edilmiş olup hastalığa neden olmadığı gibi tavuklarda serotip 1'e karşı korumayı da sağlamamaktadır. Antijenik varyant suşlar Amerika'da bildirilmiştir (Synder ve ark., 1988). Orta Amerika (Jackwood ve Sommer, 1999) ve Avustralya'da (Spats ve Ignjotovic, 2000) tesbit edilen vakalar bulunmaktadır. VP2'de bulunan antijenik bölge antikorların nötralizasyonunu uyarır (Becht ve ark., 1988). Serotip 1 içinde nükleotid ile karşılaştırıldığında VP2'nin kodlandığı bölgede farklılıklar olduğu ve değişken VP2(hyper-) bölge olarak dizayn edildiği gözlenmektedir (Bayliss ve ark., 1990). Bu durum kaçak mutantların gelişimini (Oppling ve ark., 1991a) açıklamaktadır. Grup ve nötralize olmayan serotip spesifik epitoplar temel olarak VP3'te lokalize olmuştur (Oppling ve ark., 1991b). VP2'nin değişimleri ile ortaya çıkan vvIBDV suşları Avrupa, Afrika ve Asya'da aynı zamanda ortaya çıkmış olup aynı grupta yer aldığı (Cao ve ark., 1998; Chen ve ark., 1998; Pitccovski ve ark., 1998; Zierenberg ve ark., 2001), antijenik ve genetik yapılarının benzerliler gösterdiği tesbit edilmiştir (İslam ve ark., 2001a).

Bursektomize edilmiş tavuklarda IBDV enfeksiyonu letal seyrederken, normal tavuklarda patojenik serotip 1 suşunun hedef organı bursa Fabriciustur. Bursa Fabriciusta yüksek miktarda antijen ve yüksek virus titresi tesbit edilirken , düşük düzeyde antijen ve virus titresi de timus ve dalakta tesbit edilmiştir. IBDV gelişen B lenfositlerde replike olurken çok gelişmemiş lenfoblastlarda bulunmamaktadır (Beug ve ark., 1981; Müler, 1986). Serotip 2 suşu lenfoid hücrelerde replike olmaz. Fakat tavuk embriyofibroblastlarda ve serotip 1 suşu için adapte edilmiş doku kültürlerinde gelişme göstermektedir (Niepper ve Müler, 1996; 1998). Ogawa'nın yaptığı alışma IBDV'nin bağlı olduğu molekülün N-glycosylated proteinden oluştuğunu göstermiştir (Ogawa ve ark., 1998). Diğer bazı viruslarda bilindiği gibi IBDV enfeksiyonu tavuk embriyofibroblastlarının potasyum akımını da değiştirmektedir (Repp ve ark.,1998). Bu durum membran permeablitesinde değişiklik yapar ve intrasellüler iyon homeostasisini etkileyerek sitolizisin oluşmasına ve enfekte hücrelerin ölümüne yol açmaktadır.Double-labelling tekniği ile yapılan alışmalar IBDV'nin replikasyonu ile artan apoptosisin enfekte tavuk embriyo hücrelerinde, bursa hrelerinde ve civardaki antijen–negatif hücrelerde olduğunu göstermektedir (Jungmann ve ark., 2001; Nieper ve ark., 1999). Apoptik hücre oranı IBDV'nin replikasyon etkinliğine bağlıdır. UV ile inaktive edilmiş IBDV partiklleri apoptosise neden olmamaktadır. Nekroz, IBDV ile enfekte bursa hücrelerinin apoptosisin etkisiyle hızla tüketilmesinden oluşmaktadır.

Akut enfeksiyondan sonra yaşamaya devam eden piliçlerde virus replikasyonu azalır, bozulan bursal folliküller tekrar B hücreleri ile yeni popülasyonlar oluşturur. IBDV'nin indüklediği immunopatogeneze ve dokuların iyileşmesinde T hücrelerinin rolü üzerine yapılan çalışmalarda enfeksiyondan 7 gün sonra bursa Fabriciusta maximum düzeye ulaşan CD4 ve CD8 hücrelerinin her ikisinin de infiltrasyonu olduğu tespit edilmiştir (Kim ve ark., 2000; Sharma ve ark., 2000). Viral replikasyonun olduğu hastalığın erken fazında bulunan intrabursal T hücreleri sitokinler ve sitotoksik efektlerin salınması ile doku iyileşmesini geciktirerek bursal doku hasarını artırmaktadır (Rautenschlein ve ark., 2002a). Son çalışmalarda hücresel immunitenin rolü (Yeh ve ark., 2002) ve virus-spesifik

antikorların önemi (Rautenschlein ve ark., 2002b) araştırılmaktadır. Yapılan bu araştırmaların sonucu IBDV'ye karşı oluşan humoral immunitenin korumada yeterli olmadığı görüşü gelişmiştir. T hücrelerinin bulunması koruma için kritik bir değer olduğunu göstermiştir (Van den Berg , 2000).

Bir IBDV enfeksiyonunun geniş olarak ortaya çıkması suşa, enfekte eden virusun miktarına, sürünün kendi ve damızlığının yaşına, inokulasyon yoluna, nötralize edici antikorların varlığına veya yokluğuna bağlıdır. Serotip 1/ serotip 2 IBDV' nin genom A segmenti bursa tropismi taşır, segment B virus replikasyonunun etkinliğini içerir (Zierenberg ve ark., 2003). Patojenik serotip 1 saha suşu içerisinde klasik virulent (cv) ve çok virulent (vv) patotipler ve antijenik varyant suşlar grup oluşturur. Determinantların virulensini tanımak için (özellikle de vv patotipin karakteristik özelliklerini) birçok çalışma yapılmıştır. İn vivo çalışmalar, filogenetik analizler sonucu VP2 residülerinin moleküler determinantları virulens, cell tropism ve vvIBDV'nin patojenik fenotipi oluşturulabilir (Brandt ve ark., 2001; Yamaguchi ve ark., 1996). Diğer taraftan Boot ve arkadaşları (Boot ve ark., 2000), cv ve vv fenotipleri arasında VP2 üzerine yaptığı çalışmada virulens için tek determinantın VP2 olmadığını göstermiştir. ORF'nin VP1'i kodladığı bölgede yapılan çalışma (Islam ve ark., 2001b) bu multifonksiyonel proteinin virus replikasyonunda ve virulens üzerinde kritik etkiye sahip olduğunu göstermiştir.

Doku kültüründe replikasyon için IBDV'nin adaptasyonu atenüasyon için geliştirilmiştir (Lange ve ark., 1987). Doku kültüründe cvIBDV'nin tekrarlanan pasajları küçük plak fenotipinin oluşmasına yol açmış ve yüksek düzeyde atenüe edilerek (Müler ve ark., 1986) uzun yıllar canlı aşı olarak kullanılmıştır. Wild-tip IBDV suşları, özellikle vvIBDV suşları normal olarak hücre kültürlerinde ürememektedir.VP2 içindeki spesifik amino asitler tanımlanarak IBDV'nin doku kültürüne adaptasyonu sağlanmıştır (Lim ve ark., 1999; Yamaguchi ve ark., 1996).

Son yapılan in vivo çalışmalarla, *site-directed mutagenesis* ve *reverse genetic* yaklaşım ile tavuk embriyo hücre kültürlerine adapte edilen vvIBDV'u SPF

tavuklar (Van Loon ve ark., 2002) ve ticari tavuklar (Raue ve ark., 2004a) için parsiyel olarak atenüe edilmiştir.

Tavuk sürülerinde klinik tablo ve hastalığın seyri genellikle IBDV enfeksiyonunun göstergesidir. Bursa Fabriciustaki değişiklikler karakteristiktir. Histopatolojik çalışmalarla immunohistokimyasal olarak gösterilen viral antijenler kombine edildiğinde IBDV enfeksiyonu doğrulanmaktadır. IBDV antikorsuz yumurtalara inokule edildiğinde izole edilebilmektedir. Viral antijenler agar jel presipitasyon (AGP) veya antigen-capture ELISA (AC-ELISA) ile göstertilebilmektedir. Spesifik IBDV antikorların varlığı ticari ELISA sistemleri ile tesbit edilebilmektedir. Virus nötralizasyon (VN) testi serolojik bir test olup IBDV izolatlarının antijenik serotiplerini ve subtiplerini güvenli olarak ayırmaktadır (Jackwood ve Saif, 1987).

Son günlerde IBDV teşhisinde *reverse transcription-polymerase chain reaction* (RT-PCR) sıklıkla kullanılmaktadır. RT-PCR vvdIBDV'nin hızla identifiye edilmesini sağlamaktadır (Jackwood ve Jackwood, 1994; Zierenberg ve ark., 2001). *Restriction fragment lenght polymorphism* (RFLP) halen IBDV'nin altı farklı moleküler grubunu düzenlemek için kullanılmaktadır (Lui ve ark., 2002; Viswas ve ark., 2002). IBDV ile enfekte bursa Fabriciusta hastalığın erken dönemini tesbit etmek için in situ RT-PCR geliştirilmiştir (Zhang ve ark., 2002).

IBDV'ları yüksek derecede virulent olup saha şartlarına son derece dirençlidir.

Aşılama, tavuklarda IB hastalığının kontrolünde uygulanan en temel metottur. Aşılama programlarının oluşturulması için birçok faktör göz önünde tutulmalıdır. Bu faktörler arasında, çevrede ve kümeste görülen enfeksiyonun yaygınlığı, saha virusunun virulensi, civcivlerde maternal antikorların varlığı, düzeyi ve heterojenitesi, aşılamada kullanılacak aşının cinsi (mild, intermediate, hot), aşılama yöntemi, hayvanın yaşı, yetiştirme şekli ve idari işlemlerin durumu" bulunmaktadır. Attenüe aşı suşlarının geliştirilmesinden önce IBD'nin kontrolünde civcivlerin

bilinçli olarak erken yaşta infeksiyona maruz bırakılması bir yöntem olarak uygulanmaktaydı. Bu uygulama daha önce hastalığı geçiren, civcivlerin maternal antikora sahip olduğu işletmelerde önerilmekteydi. Aynı zamanda 2 haftalık yaş-tan küçük olan genç civcivler IBD'nin klinik bulgularını göstermemekteydi. Erken yaşta şekillenen IBD infeksiyonlarının şiddetli immunosupressif etkilerinin bulunmasından sonra, virulent suşlarla yapılan kontrollü maruz bırakma uygulaması daha az çekici oldu. Birçok işletmede dönemler arası temizlik ve dezenfeksiyon işlemlerinin tam anlamıyla yapılmaması ve virusun stabil ve güçlü yapısı nedeniyle civcivler doğal olarak erken yaşta subklinik infeksiyonlara yakalanmaktadır. Günümüzde, canlı ve inaktif aşılarla aşılanan anaçlardan elde edilen civcivlerde sağlanan yüksek maternal antikor düzeyi ve seçilen uygun aşı ve aşılama programları ile yukarıdaki durum elimine edilebilmektedir (Akan , 2002).

IBDV infeksiyonlarından korunmada kullanılan aşılar pek çok firma tarafından üretilmektedir. Canlı aşılar mild, intermediate ve hot olarak gruplanmakta; virulensleri ve antijenik güçleri farklılık göstermektedir. İnaktif aşılar da özellikle damızlıkların aşılanmasında kullanılmakta diğer aşılarla kombine edilebilmektedir. Korumada kullanılacak aşıların seçiminde, yukarıda belirtilen durumların gözönüne tutulması ve ölçümlenebilen değerlerin (örnek: maternal antikor seviyesi ve üniformitesi) belirlenmesi önemlidir (Akan , 2002).

a) Mild (zayıf) aşılar: İmmunsupresyona yol açmamaları nedeniyle güvenilirlerdir. İmmun sistemi uyarma gücü düşüktür ve orta düzeydeki maternal antikordan etkilenirler. Uygulamalarından etkin sonuçlar alabilmek için, düşük düzeyde maternal antikor taşıyan civcivlerde kullanılması, alınan serum örneklerinin AGID testinde negatif ve/veya VN titresi 1: 100 değerinin altında olması gerekmektedir. Bu durumu taşımayan sürülerde kullanımında etkin sonuçlar alınamaz. Bu tip aşılar, intramuskuler enjeksiyon, sprey veya içme suyuyla uygulanabilmektedir (Akan , 2002).

b) Intermediate (orta-kuvvetli) aşılar: Bu aşılar günümüzde en fazla kullanılan IBD aşılarıdır. Mild ve hot aşılar arasında iyi bir denge oluştururlar.

Orta düzeyde maternal antikorları aşp, iyi bir bağışıklık sağlayabilirler. Bu tip aşlar, hayvandan hayvana direkt temasla yayılır, hastalık, ölüm ve immunsupresyona neden olmazlar. Stabildirler ve pasajlarla virulenste artma gözlenmez. Bu aşlar sprey ve içme suyuyla uygulanmaktadır. Kas içi uygulamaları nadirdir. Intermediate aşlar maternal antikor seviyesi düşük sürüler 1.gün sprey şeklinde uygulanabilir. Hastalığın yaygın olduğu bölgelerde ikinci aşı 10-14. günde ve gerekliyse 3. aşılama son aşlamayı takip eden 7-10.günde yapılabilir (Akan , 2002).

c) Hot (kuvvetli, intermediate plus) aşlar: "Intermediate aşlara göre daha patojendir. Orta ve yüksek düzeyde maternal antikorları aşp iyi bir bağışıklık sağlayabilirler.Kısmen immunsupresyon oluştururlar, pasajlar sonrasında virulens kazanabilirler. IBDV infeksiyonlarında irtermediate aşların yarar sağlanmadığı, yüksek ölümlerin görüldüğü bölgelerde, maternal antikor seviyesi orta yüksek olan sürülerde kullanılması gereklidir. Hot aşının kullanımı için aşılacak civcivlerin matemal antikor seviyesi ve heterojenitesi uygun bir serolojik yöntemle (ELISA gibi) saptanması immunsupresyon ve virulenste artma gibi bazı problemlerin görülmesini ortadan kaldırmaktadır (Akan , 2002).

d) İnaktif aşlar: Yağ adjuvanlı olarak tek bir kombine olarak piyasa sürülen aşlardır. Canlı aşlar ile aşılanan hayvanlarda oluşan bağışıklığın etkinliğini ve süresini uzatmak amacıyla kullanılmaktadır. Bu aşlar genellikle damızlıklarda canlı aşların kullanımından sonra 16-18. haftalarda injeksiyon tarzında uygulanmaktadır. Gerektiği durumlarda bazı sürülerde ve işletmelerde 40-45. haftalarda tekrarlanmaktadır. İnaktif aşların kullanılması ile üniform bir antikor düzeyi sağlamak da mümkün olmaktadır. Günümüzde variant suşla infeksiyon görülen bölgelerde standart suşlar ile variant suşlardan hazırlanan inaktif aşlar da bulunmaktadır. Aşının inaktif olması nedeniyle primer immun yanıt oluşturulmamış sürülerde uyarıcı güçlerinin düşük ve yavaş olması, sadece injeksiyon tarzında uygulanabilmesi ve pahalı olması nedenlerinden dolayı, broyler sürülerde kullanımısınırlıdır (Akan , 2002).

e) Rekombinant aşılar: IBD virusunun VP2 antijeni, viral ve maya hücrelerinde ekspre edilmiş ve elde edilen ürün yüksek düzeyde immunojenik bulunmuştur. Ancak hazırlanan bu rekombinant aşılar henüz pazara ticari bir ürün olarak sunulmamıştır (Akan , 2002).

Çıkımdan sonraki ilk haftalarda civcivleri koruma zorunluluğu ve yüksek enfeksiyon baskısı sıkı hijyenik önlemlere rağmen aşılamaı kaçınılmaz hale getirmiştir. Tüm yumurtlama dönemi boyunca antikor seviyelerini yüksek düzeyde tutmak için damızlıklar inaktif aşılarla aşılanmaktadır. Çıkımdan sonra civcivler canlı aşılarla immunize edilirler. Canlı aşılar maternal antikorları nötralize edebileceğinden zamanlaması büyük önem taşımaktadır. Koruma titreleri sürü içinde epeyce farklılıklar gösterebilmektedir. Yüksek düzeyde atenüe edilmiş aşı suşları (mild ve intermediate aşılar) ile elde edilen immunitenin vvIBDV suşları ile kırılabilceğı düşünölmelidir. Diğer taraftan az atenüe edilmiş aşı suşları (hot aşılar) bursa folliköllerinde lezyona neden olabilmektedir. Ayrıca aşılanmış tavuklarda immunsupresyon gözlenebilmektedir.

Aşı virusu in vivo şartlarda optimum miktarda antikor ile komplike edilerek “immun kompleks” bir aşı geliştirilmiştir (Whitfill ve ark., 1995). Bu aşı in ovo aşılama için kullanılmıştır. Immun kompleks aşının çalışma mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte, civcivlerde immunsupresyon etkilerinin azaltılmasına yönelik olup, daha iyi bağışıklık sağladığı ileri sürölmektedir.

Taşıyıcı olarak fowl pox virus (Shaw ve Davison, 2000), hindiherpesvirus (Darteil ve ark., 1995), fowl adenovirus (Francois ve ark., 2001), Marek virusu (Tsukamoto ve ark., 2002) ve Semiliki Forest virus (Phenix ve ark., 2001) kullanılarak geliştirilen rekombinant IBD aşıları da bulunmaktadır.

İn vitro olarak geçirilen VP2 (Wang ve ark., 2000 ; Yehuda ve ark., 2000) veya IBDV’nin virus benzeri partikölleri (VLP) (Kibenge ve ark., 1999) immunojenik olarak bulunmuştur.

IBDV'ye karşı DNA aşıları da geliştirilmiştir ancak ticari hale getirilmemiştir (Chang ve ark., 2003; Fodor ve ark., 1999).

Araştırmacılar patotipik ve antijenik varyant oluşturma kabiliyeti sayesinde her an sahada yeni bir şekli ile ortaya çıkan bu enfeksiyonun araştırılması, anlaşılması ve koruma stratejileri oluşturulabilmesi için araştırmalar yapmaktadırlar.

COST (Cooperation in the field of Scientific and Technological Research): Avusturya, Belçika, Hırvatistan, Danimarka, Finlandiya, Fransa, Almanya, Bulgaristan, İrlanda, İtalya, Hollanda, Norveç, Polonya, İspanya, İsveç, İngiltere'den oluşan üyeleri ile enfeksiyonun epidemiyolojisi, teşhis ve ekonomik etkilerini, aşılama, patogeneze ve moleküler virolojisini araştırmak üzere çalışma grupları oluşturmuştur (COST Action 839, 2001)

INCO-DC (International Cooperation with Developing Countries) : Çin, Belçika, Fransa, Almanya, Bangladeş, Hindistan ve Endonezya'yı kapsayan bir organizasyon olup, farklı formlardaki IBDV'nun teşhis ve epidemiyolojik yöntemlerle daha yeni bilgilere ulaşılmasını amaçlamaktadır. Buna referans materyalin seleksiyon ve karakterizasyonu, genomik veri bankaları, patogeneze çalışmaları, reverse genetik sistem tarafından klonların yapılandırılması ve aşılama çalışmaları ile ulaşmaya çalışılmaktadır (COST Action 839, 2001).

Bu çalışma ile Gumboro enfeksiyonu görülmemiş bir kümese yerleştirilen ticari broyler bir sürüde uygulanan intermediate bir aşının humoral immunité üzerine olan etkilerinin araştırılması hedeflenmektedir.

3. MATERİYAL VE METOD

3.1. Cıvciv Materyali: Ülkemizde ki büyük bir entegreye ait büyütme kümesinde çalışıldı. Daha önceden hiç gumboro enfeksiyonu geçirmemiş bir küme seçildi. Kümese 53.040 adet (Ross 308) broiler tip cıvciv konuldu. Kesim yaşına kadar ticari yem ile beslendi. Yetiştirme bölgesi hastalıktan ari olup, alınan diğer biyogüvenlik tedbirleri ile hayvanın kesime kadarki geçen büyüme dönemi içinde tüm verileri (günlük ölümler, FCR) kayıt edildi.

3.2. Örneklemeler: Çıkım gününden başlayarak 0.-7.-14.-21.-28.-35.-42.-48. günlerde kümeteki hayvanlardan ortalama 20-30 adet kan alındı. Serumlar çıkarıldı. Serolojik inceleme yapılınca kadar -20 de saklandı.

3.3. Aşılar ve Aşılama Programı: Gumboro hastalığına karşı aşılamada Bursa CE (Vineland) IBDV aşısı içme suyu ile verildi. Kullanılan aşı suşu Dr.J.Rosenberger'den 1989 tarihinde alınmıştır.

Aşılama programı ;

- -3.gün; MAREK (HVT)- Merial- inovo
- 0. gün; ND (HB1)+IB (H120) - -sprey
- **8. gün; IBDV(2512) - Vineland - içme suyu**
- 10. gün; ND(Clone30) -İntervet - sprej
- **16. gün; IBDV(2512) - Vineland - içme suyu**
- 20. gün; ND(Clone30) - Intervet – sprej olarak uygulandı.

3.4. Serolojik Kontrol: ELİSA (Enzym-linked immunoSorbent Assay) ile yapıldı. Bunun için Biocheck Firmasının İnfeksiyöz Bursal Hastalığı antikor test kiti (Code:CK113, Lot no:FS4088,exp.date:31/07/2005) kullanıldı.

Alınan kan serumları, Biocheck IBD antikor test kitinin test prosedürüne uygun olarak işlendi. Ayrıca aşılama programı gereği serumlar Newcastle (Code:CK116, Lot no:FS4114,exp.date:30/09/2005) ve İnfeksiyöz Bronşitis

(Code:CK119, Lot no:FS4121,exp.date:31/10/2005) hastalıklarına karşı da aynı firmanın antikor kitleri kullanılarak programın serolojik değerlendirilmesi yapıldı.

Tavuk serum örnekleri dilüe edilerek mikropleyt çukurlarına eklendi. Anti-IBDV antikorları bağlanarak antijen-antikor kompleksleri oluştururlar. Non spesifik antikorlar ve diğer serum proteinleri yıkanarak ortamdan uzaklaştırılır. Alkalın fosfotaz enzimi ile etiketlenirilmiş anti-chicken IgG eklenerek orijinal tavuk IBDV antikorlarını bağlarlar. Diğer bir yıkama işlemi ile bu işlevi tamamlamış konjugat ortamdan uzaklaştırılır. pNPP(p-Nitrofenil fosfat) formundaki substrat, *kromojen* olarak olarak eklenir. Oluşan sarı renk, serum örneklerindeki anti-IBDV miktarına bağlı olarak yoğunluk gösterir.

Kit içinde ; IBDV kaplanmış pleytler (inaktive edilmiş viral antijen), konjugat solusyonu (koyun anti-tavuk:protein stabilizerleri ile tris buffer içinde Alkalın fosfotaz, inert red dye, koruyucu sodyum azid), substrat tabletleri (pNPP tabletleri substrat buffer ile çözmek üzere), substrat buffer (enzim co-faktörler ile dietanolamin buffer), stop solusyonu (dietanolamin buffer içinde sodyum hidroksit), serum örneklerinin dilüenti (protein stabilizerleri ile fosfat buffer ve koruyucu sodyum azid), yıkama solüsyonu (Powdered fosfat buffered saline with Tween), negatif kontrol (Protein stabilizerleri ile fosfat bufferda SPF serumu ve koruyucu sodyum azid), pozitif kontrol (Fosfat bufferda spesifik IBDV antikorları ve koruyucu sodyum azid) hazır olarak bulunmaktadır. Ayrıca kullanılan diğer laboratuvar malzemeleri ise; Hassas pipet ve pipet uçları,8-12 kanallı pipetler,distile veya deiyonize su , 405 nm filtreli mikrotitre pleyt okuyucusu ve mikrotitre pleyt yıkayıcısıdır.

IBDV kaplı pleytlerin A1 ve B1 çukurlarına 100 µl negatif kontrol serumu konuldu. C1 ve D1 çukurlarına 100 µl pozitif kontrol serumu konuldu. Serum örnekleri 1/500 oranında dilue edilerek 100'er µl'si diğer çukurlara uygun bir şekilde eklendi ve oda ısısında 30 dakika bekletildi. Çukurların içerikleri aspire edilerek 3 kez yıkama solüsyonu (her bir çukur için 300µl) ile yıkandı. Pleytler kurutma kâğıtlarına ters çevrilerek fazlalıklar alındı. 100µl konjugat her çukura eklendi ve oda ısısında 30 dakika bekletildi. Tekrar her bir çukur 5 kez yıkandı. Her çukura

100µl substrat eklenerek 15 dakika oda ısısında bekletildi. Reaksiyonu durdurmak için 100µl durdurma solüsyonu ekledi. ELISA okuyucusunda 405nm’de okutularak veriler kaydedildi.

Negatif kontrol 0,3’ün altında okunursa ve negatif kontrol ile pozitif kontrol farkı 0,15’ten büyükse ‘‘test sonucu geçerlidir’’olarak değerlendirilir.

Numunelerdeki antikorların rölatif miktarları pozitif kontrol referans S/P (örneğin pozitif oranı) alınarak ile hesaplandı.

3.5. Sonuçların yorumlanması; Örneklerin S/P (numune/ pozitif) oranı 0,2 veya daha büyükse anti-IBDV antikorları içeriyor veya sonuç pozitifdir denir.

S/P oranının hesaplanması:

$$\frac{\text{Test örneklerinin ortalaması} - \text{Negatif kontrolün ortalaması}}{\text{Pozitif kontrolün ortalaması} - \text{Negatif kontrolün ortalaması}} = \text{S/P}$$

3.6. Antikor titresinin hesaplanması: Aşağıdaki formül 1:500 dilüsyondaki bir örneğin S/P değerinin en yüksek titreye oranı ile ilişkilidir.

$$\text{Log10 Titre} = 1,1 * \text{Log (sp)} + 3,361$$

$$\text{Antilog} = \text{Titre}$$

S/P değeri	Titre Dağılımı	Antikor Durumu
0,149 veya daha düşük	284 veya daha düşük	Negatif
0,150- 0,199	285- 390	Şüpheli
0,200 veya daha büyük	391 veya daha büyük	Pozitif

Tüm bu S/P, titre ve genel sürü profili değerleri kit üreten firmaların *software* programları ile hesaplandı.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Bulgular

4.1.1. Klinik Gözlem: Kuluçkahaneden sağlıklı olarak temin edilen 53,040 adet broiler civciv ile başlandı.Günlük olarak sağlık,yem ve su tüketimleri gözlemlendi.Haftalık canlı ağırlık ölçümleri ve FCR hesaplamaları yapıldı.Önemli hiçbir hastalık ve yönetim problemi ile karşılanmadı. Ortalama canlı ağırlık; 2.248 gr., FCR: 1,915, ölüm oranı: % 3,81 olarak kesimhaneye gönderildi.

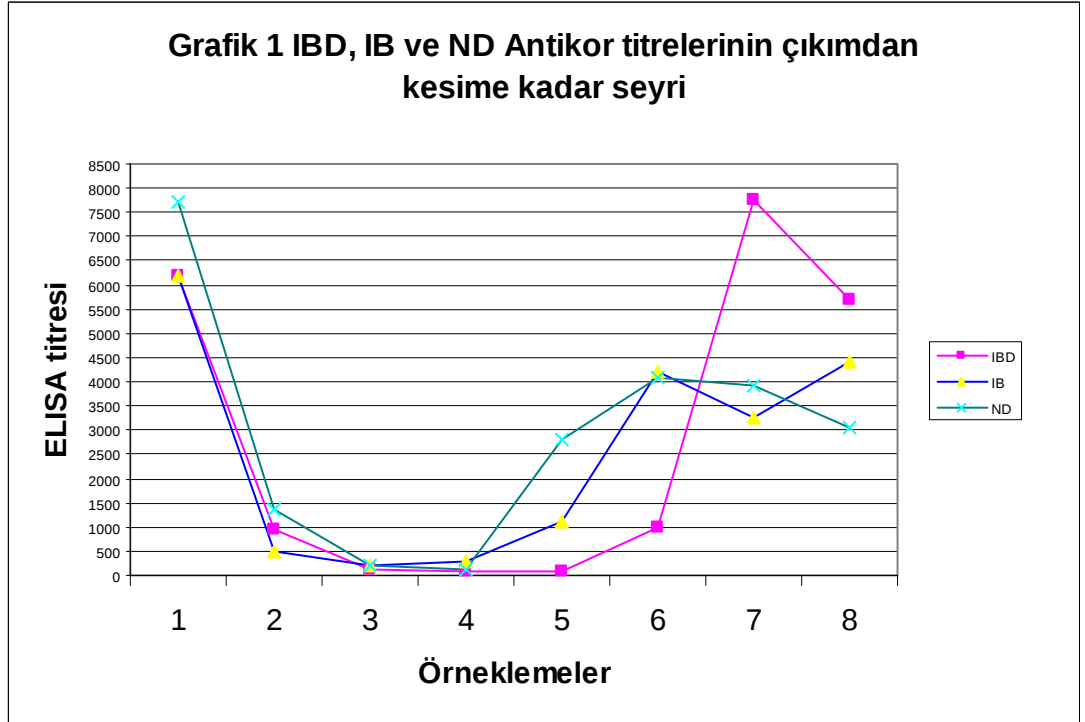
4.1.2. Serolojik Bulgular: Sürüden alınan kan serum örnekleri; ELISA ile IBDV' nin yanı sıra IB ve ND için de incelendi.

IBDV antikorları, 1, 8, 15, 22, 29, 36, 43 ve 50. günler itibarı ile sırasıyla 6198, 954, 116, 79, 95, 984, 7775 ve 5700 olarak bulundu. ND antikorları aynı günler itibarı sırasıyla, 7718, 1377, 190, 135, 2808, 4098, 3934, ve 3051 bulunurken IB antikorları sırasıyla 2636, 484, 212, 295, 1106, 4214,3261 ve 4397 olarak bulundu.

Biocheck firmasının öngördüğü titre değerlerine göre IBD için iki intermediate aşı uygulamasının yapıldığı sürülerde, 9000'den büyük titre değeri enfeksiyon şüphesi demektir.CV olarak gösterilen değer, titre değerlerinin sürü içindeki homojenitesini göstermektedir.Hesaplanan CV değeri ne kadar küçükse sürü titre değerleri açısından o kadar homojendir veya değer ne kadar büyükse o kadar heterojendir.

Tablo 1: Sürünün her kan alımında elde edilen serumların IBDV, IB ve ND için yapılan ELISA test titreleri sürü ortalama sonuçları.

<u>Tarih</u>	<u>Sürü yaşı</u>	<u>Serum adedi</u>	<u>IBDV</u>	<u>IB</u>	<u>ND</u>
14.10.2004	1	23	6198	2636	7718
21.10.2004	8	23	954	484	1377
29.10.2004	15	23	116	212	190
05.11.2004	22	22	79	295	135
12.11.2004	29	23	95	1106	2808
19.11.2004	36	19	984	4214	4098
25.11.2004	43	23	7775	3261	3934
02.12.2004	50	26	5700	4397	3051
Ref. Poz. Kont.	1		7880	6149	10000



Tablo2: Sürünün her kan alımı dönemine ait IBDV ile ilgili ELISA test sonuçları.

<u>Tarih</u>	<u>Sürü yaşı</u>	<u>Serum adedi</u>	<u>IBDV Ort.Titre</u>	<u>%CV</u>
14.10.2004	1	23	6198	39
21.10.2004	8	23	954	57
29.10.2004	15	23	116	39
05.11.2004	22	22	79	55
12.11.2004	29	23	95	54
19.11.2004	36	19	984	192
25.11.2004	43	23	7775	46
02.12.2004	50	26	5700	58

İlgili entegre tesisin farklı kümeslerinde retrospektif olarak yapılan değerlendirmeler sonucunda IBDV yönünden en riskli günlerin genellikle 17.-40. günler arası olduğu belirlendi. Hayvanların hastalığa en hassas olduğu günler IBDV antikor titrelerine bakıldığında, koruma titrelerinin (ELISA titresi 500) altında seyrettiği görülmektedir. Bu aşılama programı ile işletmedeki IBDV ve diğer enfeksiyonlar (IB, ND) kontrol altına alınmıştır. Bu sonuç, IBDV enfeksiyonunda humoral bağışıklığın pek de önemli olmadığını, başka bir ifade ile hücresel immünitinin daha etkin olduğunu göstermektedir.

4.2. Tartışma

Gumboro olarak da bilinen İnfeksiyöz Bursal hastalık, 3-6 haftalık civcivlerin akut bulaşıcı viral bir enfeksiyonudur (Lukert and Saif, 1991; Parkhurst, 1964). IBD ilk kez Cosgrove (1962) tarafından, böbreklerde yaptığı hasar sebebiyle *avian nephrosis* olarak tanımlanmıştır. 1970 yılında avian nephrosisli bir tavuğun böbreğinden Gray suşu izole edilmiştir (Akan, 2002). Başlangıçta bu suşun IBDV enfeksiyonunun etkeni olduğu zannedilirken daha sonraki çalışmalarda Gray suşu ile immunize edilen deneme hayvanlarının enfeksiyöz bursal ajan ile enfekte oldukları ve Bursa fabricius'ta değişiklikler olduğu gözlenmiştir. Böylece Gray virusunun böbreklerde nefrotoksik etki yapan *Enfeksiyöz Bronşit Virus* olduğu, Gumboro hastalığını meydana getiren virusun bundan farklı olduğu kabul edilmiştir. Hastalık ilk defa A.B.D.'de Delaware'de Gumboro bölgesinde görüldüğü için *Gumboro Hastalığı* denmiştir.

İnfeksiyöz Bursal hastalıktan korunmada en çok tercih edilen metot aşılama değildir. Özellikle damızlık tavukların aşılama çok önemli bir yer tutmaktadır. Çünkü aşılanmış damızlıklardan gelen maternal antikorlar civcivleri erken dönemde karşılaşılabileceği immunsupresif enfeksiyonlardan korumaktadır. Maternal antikorlar genellikle civcivleri 1-3 hafta aralığında korumaktadır. Bunun yanında damızlıklarda bağışıklığı yağlı adjuvan içeren aşılarla desteklemek, civcivlerde oluşacak pasif bağışıklığı 4-5 haftaya kadar uzatabilecektir (Baxendale ve Luttkien, 1981; Lucio, ve Hitchner, 1979). Maternal antikor taşıyan civcivlerdeki aktif bağışıklığın sağlanabilmesinde karşılaşılan en büyük problem aşılama zamanının iyi ayarlanmasıdır. Çünkü, civcivlerdeki maternal antikor seviyeleri, aşılama yolları ve aşıda kullanılan virusun virulensi bunu etkilemektedir. Damızlık sürüler ve civcivlerinin antikor seviyelerinin ölçülmesi, aşılama zamanının tayininde yardımcı olmaktadır.

Aşılar da kullanılan virusun virulensi ve antijenik farklılıklarına göre, canlı aşılar da birçok seçenek bulunmaktadır. Virulense göre, aşılar “mild, mild intermediate, intermediate, intermediate plus ve hot” olmak üzere

sınıflandırılmaktadır. Hot, intermediate ve avirulent suşların virus nötralizasyon testine göre antikor titreleri yaklaşık olarak sırasıyla 1:500, 1:250 ve 1:100'den az olarak ölçülmüştür (Lucio, ve Hitchner, 1979; Skeeles ve ark., 1979).

Yağlı adjuvan içeren inaktif aşılar, damızlık sürülerin hastalığa karşı bağışıklığını desteklemek ve süreyi uzatmak için kullanılır. Ancak, pratik değildir ve civcivlerde primer cevabın oluşturulmasında tercih edilmezler. Yağlı adjuvan içeren aşılar, damızlıklarda canlı virus aşılılarıyla sağlanmış bağışıklığın devamı için kullanıldığında daha etkilidirler (Wyeth ve Cullen, 1978).

IB hastalığında, maternal bağışıklık, çiftlik yönetimleri ve uygulama farklılıklarından dolayı ülkelerde ulusal bir aşılama programı uygulanmamaktadır. Eğer bir broyler çiftliğinde maternal antikor seviyeleri kayıtlarda yüksek olarak tespit ediliyor ve bu seviyelerde önemli değişiklikler görülüyorsa aşılama gerek duyulmamaktadır. Intermediate aşılarda aşılama zamanı, 7 gün ile 2-3 hafta olarak belirlenmiştir. Eğer broyler civcivler 1 günlükken aşılanacaksa, aşı Marek hastalığı aşısının içinde verilmelidir. Yağlı adjuvan içeren aşılar, genellikle 16-18. haftalarda kullanılır. Kümeslerdeki antikor titrelerindeki ani düşüşlerde damızlıkların tekrar aşılama gerekmektedir. IB hastalığından korunmada, rekombinant aşılar da geliştirilmektedir, ancak henüz pazara ticari bir ürün olarak sunulmamıştır (Bayliss ve ark.,1991; Dartel ve ark., 1995; Fahey ve ark., 1989; Macreadie ve ark., 1990).

Araştırmamızda, -3.gün MAREK, 0. gün ND, 8. gün IBDV, 10. gün; ND, 16. gün IBDV, 20. gün ND aşılama programı uygulanmıştır. IBDV antikorları, 1, 8, 15, 22, 29, 36, 43 ve 50. günlerde ELISA ile ölçülmüştür. İlgili entegre tesisin farklı kümeslerinde retrospektif olarak yapılan değerlendirmeler sonucunda genellikle 17.-40. günler arası enfeksiyon riski olduğu belirlenmiştir. Hayvanların hastalığa en hassas olduğu günler IBDV antikor titrelerine bakıldığında, koruma titrelerinin (250 intermediate aşı için,500 hot aşı için koruma düzeyi) altında seyrettiği görülmektedir. Ancak, bu aşılama programı ile işletmedeki IBDV ve diğer enfeksiyonlar (IB, ND) kontrol altına alınmış bulunmaktadır. Dolayısıyla, IBDV

infeksiyonunda humoral bağışıklığın yanında hücresel bağışıklığın da dikkate alınması sonucuna varılmıştır.

Erganiş ve Orhan (1998), yumurtacı civcivleri Gumboro hastalığına karşı, ilk 24 saat içinde maternal antikor seviyelerini ELISA ile tespit ettikten sonra, 9. günde IBDV + 1. Gumboro, 15. günde 2. Gumboro ve 26. günde 3. Gumboro aşıları ile aşılamışlardır. Aşılamaları takip eden 32., 49. ve 52. günlerde ELISA ile antikor titrelerini ölçmüşlerdir. Araştırmacılar, ilgili kümeslerin önceki dönemlerinde Gumboro hastalığı çıkma yaşı olan (28. ve 35.) günlerde antikor titrelerinin koruyucu seviyede olmadığını tespit etmişler ve antikor titreleri dikkate alındığında korunmada hücresel immunitenin azımsanmayacak öneme sahip olabileceği kanaatine varmışlardır. Araştırmamızda elde edilen sonuçlar, Erganiş ve Orhan (1998)'ın elde ettiği sonuçlarla paralellik göstermektedirler.

Genel olarak humoral immun cevabın, IBD virusu virulensine karşı rol oynadığı düşünülmektedir. (Lukert ve Saif, 1997; Tsukamoto ve ark., 1995). Bunun yanında hücresel bağışıklıkta özellikle T lenfositlerin oynadığı rol tam olarak bilinmemektedir. Ancak, birçok virusa karşı koruyucu bağışıklığın geliştirilebilmesi için yeterli düzeyde T lenfosit cevabı gerekmektedir (Zinkernagel, 1996). IBD virusu virulensine karşı T lenfositlerin önemli bir yer tuttuğunu Rautenschlein ve arkadaşları (Rautenschlein ve ark., 2002a) göstermişlerdir. Aynı araştırmacılar, gelecekte T lenfosit uyarımını arttırarak yeterli düzeyde bağışıklık sağlayabilecek IBDV aşılarının geliştirilmesini savunmaktadırlar. Bazı araştırmacılar (Kim ve ark., 2000; Rautenschlein ve ark., 2002a; Tanimura ve Sharma, 1997), bellek T lenfositlerin virusa karşı tepkide yeterli düzeyde etki oluşturacağını ve özellikle hastalığın akut döneminde oluşacak viral replikasyonları sınırlayacaklarını savunmaktadırlar.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Araştırmamızda, ilgili entegre tesisin farklı kümeslerinde retrospektif olarak yapılan değerlendirmeler sonucunda genellikle 17.-40. günler arası enfeksiyon riski olduğu belirlenmiştir. Hayvanların hastalığa en hassas olduğu günler IBDV antikor titrelerine bakıldığında, koruma titrelerinin (250 intermediate aşı için,500 hot aşı için koruma düzeyi) altında seyrettiği görülmektedir. Ancak, bu aşılama programı ile işletmedeki IBDV ve diğer enfeksiyonlar (IB, ND) kontrol altına alınmış bulunmaktadır. Dolayısıyla, IBDV enfeksiyonunda humoral bağışıklığın yanında hücrel bağışıklığın da dikkate alınması özellikle T lenfositlerin oynadığı rol hakkında yeni araştırmaların yapılması ve elde edilen sonuçlarımızın da bu araştırmalara ışık tutması sonucuna varılmıştır.

ÖZET

İnfeksiyöz Bursal Hastalık, 3 haftalık veya daha büyük civcivlerde görülen, infeksiyöz bursal hastalık virusu tarafından oluşturulan akut seyirli ve çok bulaşıcı bir infeksiyondur. Bu hastalık yüksek mortaliteye sahiptir. Hastalıktan iyileşen civcivlerde oluşan immunsupresyon, çeşitli sekonder infeksiyonlarının oluşmasına ve yapılan aşılamalara cevabın azalmasına sebep olmaktadır. Böylece de tüm dünya kanatlı endüstrisinde önemli ekonomik kayıplara yol açmaktadır.

Bu araştırmada, 53.040 broyler civciv (Ross 308), Gumboro aşısı (içme suyu) (Vineland) 8 ve 16. günlerde aşılandı. Antikor titreleri 1, 8, 15, 22, 29, 36, 43 ve 50. günlerde ELISA ile tespit edildi. Civcivlerdeki antikor titreleri sırasıyla 2636, 484, 212, 295, 1106, 4214, 3261 ve 4397 olarak bulundu.

Araştırmanın yapıldığı çiftlikte hastalığın görülme zamanının 17-40. günler olduğu göz önünde tutulduğunda, elde edilen antikor titrelerinin 22-29. günlerde düşük olduğu gözlemlenmiştir. Antikor titreleri düşük olmasına rağmen hastalığa karşı koruma sağlanmaktadır.

Sonuç olarak, Gumboro hastalığından korunmada humoral bağışıklığın yanında hücresel bağışıklığın da düşünülmesi gerekmektedir.

SUMMARY

Infectious bursal disease (IBD), caused by infectious bursal disease virus (IBDV), is an acute and highly contagious disease in chickens 3 weeks of age and older. It causes high mortality and immunosuppression in recovered chickens leading to a variety of secondary infections and a decreased response to vaccinations, which results in an important economic impact to the poultry industry worldwide.

In this study, 53,040 broiler hens (Ross 308) were immunized with Gumboro (drinking water) vaccine (Vineland) in 8 and 16 day age. Antibody titers were determined by ELISA 1, 8, 15, 22, 29, 36, 43 and 50 day. Antibody titers for chickens were found 2636, 484, 212, 295, 1106, 4214, 3261 and 4397, respectively.

As the infection was observed in the broiler farm between 17 and 40 days, the antibody titres obtained from the samples were low between 22 and 29 days. Although the antibody titres were found to be low, an immunological defense was observed.

As a result, a cellular defense mechanism should also be considered together with humoral defense mechanism against Gumboro Disease

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım boyunca ilgi ve yardımlarını gördüğüm danışmanım Yrd. Doç. Dr. M. Tolga TAN'a, araştırmamın yapılmasında katkıda bulunan Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Osman KAYA'ya, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Öğretim Üyesi Prof. Dr. Osman ERGANİŞ'e ve Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyelerine, araştırma materyalini sağladığım ve laboratuvar çalışmalarını gerçekleştirdiğim entegrasyon firmaya, firmanın veteriner hekimine, laboratuvar çalışanlarına ve saha teknik ekibine teşekkür ederim.

KAYNAKLAR

Akan M, 2002. Infeksiyöz bursal hastalık. In; İzgür M., Akan M. (Eds) Kanatlı Hayvan Hastalıkları. Medisan Yayınevi, I. Baskı, Ankara, Türkiye, pp 169-179.

Allen WH, Faragher JT, Cullen GA., 1972. Immunosuppression by the infectious bursal agent in chicken immunized against Newcastle disease. Vet. Rec., 90: 509-513.

Azad, A.A., Jagadish, M.N., Brown, M.A., Hudson, P.S., 1987. Deletion mapping and expression in E.coli of the large genomic segment of birnavirus. Virology, 161: 145-152.

Baxendale, W. and D. Lutticken. 1981. The results of field trials with an inactivated Gumboro vaccine. *Dev Biol Stand* 51: 211-219.

Bayliss CD, Peters RW, Cook JK, Reece RL, Heine HG, Chapman A, Ward CW, Fahey KJ., 1991. Physicochemical and immunological characterization of the recombinant host- protective antigen (VP2) of infectious bursal disease virus. Vaccine, 9: 715-722.

Bayliss, C.D., Spies, U., Shaw, K., Peters, R.W., Papageorgiou, A., Mler, H., Bournell, M.E.G., 1990. A comparison of sequens of segment A of four infectious bursal disease virus strains and identification of a variable region in VP2. J.Gen.Virol., 71: 1303-1312.

Baysal, T., Bozkır, M., 1989. Konya Blgesinde Kmes hayvanlarında IB, ILT, EDS, IBD, AE ve Adenovirus enfeksiyonlarının Epizootiyolojik Araştırması ve İzolasyon Çalışmaları. Etlik Vet. Mik. Derg., 6: 23-30.

Becht, H., Mler, H., Mler, H.K., 1988. Antigenic Structure of the two serotypes of infectious bursal disease virus. J.Gen.Virol., 69: 631-640.

Beug, H., Müller, H., Grieser, S., Doederlin, G., Graf, T., 1981. Hemopoietic cells transformed in vitro by REVt avian reticuloendotheliosis virus Express characteristics of very immature lymphoid cells. *Virology*, 115: 295-309.

Boot, H.J., terHuurne, A.A., Hoekman, A.J., Peeters, B.P., Gielkens, A.L., 2000. Rescue of very virulent and mosaic infectious bursal disease virus from cloned cDNA: VP2 is not the sole determinant of very virulent phenotype. *J. Virol.*, 74: 6701-6711.

Brandt, M., Yao, K., Liu, M., Heckert, R.A., Vakharia, V.N., 2001. Molecular determinants of virulence, cell tropism and pathogenic phenotype of infectious bursal disease virus. *J. Virol.*, 75: 11974-11982.

Cao, Y.C., Yeung, W.S., Law, M., Bi, Y.Z., Leung, F.C., Lim, B.L., 1998. Molecular characterization of seven Chinese isolates of infectious bursal disease virus: classical, very virulent and variant strains. *Avian Dis.*, 42: 340-351.

Chang, H.C., Lin, T.L., Wu, C.C., 2003. DNA vaccination with plasmids containing various fragment of large segment of genome of infectious bursal disease virus. *Vaccine*, 21: 507-513.

Chen, H.Y., Zhou, Q., Zhang, M.F., Giambrone, J.J., 1998. Sequence analysis of the VP2 hypervariable region of nine infectious bursal disease virus isolates from mainland China. *Avian Dis.*, 42: 762-769.

Chettle, N., Stuart, J.C., Wyeth, P.S., 1989. Outbreak of virulent infectious bursal disease in east Anglia. *Vet. Rec.*, 125: 271-272.

Confer, A.W., Spring, W., Shane, S.M., Donovan, J.F., 1981. Sequential mitogen stimulation of peripheral blood lymphocytes from chickens inoculated with infectious bursal disease virus. *Am. J. Vet. Res.*, 42: 2109-2113.

Cosgrove, A.S., 1962. An apparently new disease of chickens; avian nephrosis. *Avian Dis.*, 6: 385-389.

Darteil R, Bublot M, Laplace E, Bouquet JF, Audonnet JC, Riviere M., 1995. Herpesvirus of turkey viruses expressing infectious bursal disease virus (IBDV) VP2 immunogen induce protection against IBDV virulent challenge in chickens. *Virology*; 211:481-490.

Dobos, P., Hill, B.J., Hallet, R., Kells, D.T., Becht, H., Teninges, D., 1979. Biophysical and biochemical characterization of five animal viruses with bisegmented double-stranded RNA genomes. *J Virol.* 32: 593-605.

Dohms, J.E., Jaeger, J.S., 1998. The effect of infectious bursal disease virus infection on local and systemic antibody responses following infection of 3-week old broiler chickens. *Avian Dis.*, 32: 632-640.

Erganiş, O., Orhan, G., 1998. Yumurtacı civcivlerde Gumboro'ya karşı aşılama ve antikor titrelerinin seyri. V. Ulusal Nükleer Tarım ve Hayvancılık Kongresi, 20-22 Ekim 1998, Selçuk Üniversitesi, Konya. Pp. 437-437.

Ergün A., (1989). Tavukların Bazı viral hastalıklarının Epizootiyolojik taranmasında Kullanılmak üzere Antijen Ve Antiserum Hazırlanması. *Etlik Vet. Mik. Derg.*, 6: 35-54

Fahey KJ, Erny K, Crooks JA., 1989. Conformational immunogen on VP-2 of infectious bursal disease virus that induces virus-neutralizing antibodies that passively protect chickens. *J Gen Virol.*, 70:1473-1481.

Fodor, I., Horvat, E., Fodor, N., Nagy, E., Recendorsh, A., Vakharia, V.N., Dube, S.K., 1999. Induction of protective immunity in chickens immunised with plasmid DNA encoding infectious bursal disease virus antigens. *Acta Vet. Hung.* 47: 481-492.

Francois, A., Etteradosi, N., Delmas, B., Payet, V., Langlois, P., 2001. Construction of avian adenovirus CELF recombinants in cosmid. *J.Virol.*, 75: 5288-5301.

Giambrone JJ, Dawe DL, Eidson CS., 1977. Specific suppression of the bursa-dependent immune system of chickens with infectious bursal disease virus. *Am. J. Vet. Res.*, 38: 581-583.

Havarstein, L.S., Kalland, K.H., Christie, K.E., Endersen ,C., 1990. Sequence of large double stranded RNA segment of the N1 strain of infectious pancreatic necrosis virus ; a comparison with other Birnaviridae. *Journal of General Virology*, 71: 279-308.

Hein HG, Boyle DB., 1993. Infectious bursal disease virus structural protein VP2 expressed by a fowlpox virus recombinant confers protection against diseases in chickens. *Arch Virol*;131:277-292.

Hudson, P.J., McKern, N.M., Power, B.E., Azad, A.A., 1986. Genomic structure of the large RNA segment of infectious bursal disease virus. *Nucleic Acid Research*,14:5001-5012.

Islam, M.R., Zierenberg, K., Etteradossi, N., Toquin, D., Rivallan, G., Müller,H., 2001a. Molecular and antigenic characterization of Bangladesh isolates of infectious bursal disease virus demonstrate their similarities with recent European, Asian and African very virulent strains. *J. Vet. Med.*, 48: 211-221.

Islam, M.R., Zierenberg, K., Müller, H., 2001b. The genome segment B encoding the RNA dependent RNA polymerase protein VP1 of very virulent infectious bursal disease virus (IBDV) is phylogenetically distinct from that of all other IBDV strains. *Arch. Virol.*, 146: 2481-2492.

Ivanyi J, Morris R., 1976. Immunodeficiency in the chicken. Part IV: An immunological study of infectious bursal disease. *Clin. Exp. Immun.*, 23:154-165.

Jackwood, D.J., Jackwood, R.J., 1994. Infectious bursal disease viruses: molecular differentiation of antigenic subtypes among serotype 1 viruses. *Avian Dis.* 38: 531-537.

Jackwood, D.J., Saif, Y.M., 1987. Antigenic diversity of infectious bursal disease viruses. *Avian Dis.* 31: 766-770.

Jackwood, D.J., Sommer, S.E., 1999. Restriction fragment length polymorphisms in the VP2 gene of infectious bursal disease viruses from outside the United States. *Avian Dis.*, 43: 310-314.

Jungmann, A., Nieper, H., Müller, H., 2001. Apoptosis is induced by infectious bursal disease virus replication in productively infected cells as well as in antigen-negative cells in their vicinity. *J. Gen. Virol.*, 142: 1227-1236.

Kandil, M., 1978. Hastalıklı piliçlerin Bursa Fabriciuslarında Enfeksiyöz Bursitis Virusunun İzolasyonu ve Bazı Özellikleri Üzerine Araştırmalar. Doçentlik Tezi, Fırat Üniv.Vet. Fak.

Kaufer I, Weiss E., 1980. Significance of bursa of fabricius as target organ in infectious bursal disease of chickens. *Infect. Immun.*, 27: 364-367.

Kibenge, F.S., Qian, B., Nagy, E., Cleghorn, J.R., Wadowska, D., 1999. Formation of virus-like particles when the polyprotein gene (segment A) of infectious bursal disease virus is expressed in insect cells. *Can. J. Vet. Res.*, 63: 49-55.

Kibenge, F.S.B., Dhama, V., 1997. Evidence that virion-associated VP1 of avibirnavirus contains viral RNA sequences. *Archives of Virology*, 142: 1227-1236.

Kibenge, F.S.B., Dhillon, A.S., Russel, R.G., 1988. Biochemistry and immunogenicity of infectious bursal disease virus. *J.Gen.Virol.*, 69:1757-1775.

Kim I-J, Gagic M, Sharma JM., 1999. Recovery of antibody producing ability and lymphocyte repopulation of bursal follicles in chickens exposed to infectious bursal disease virus. *Avian Dis.*, 43: 401- 413.

Kim, I.J., You, S.K., Kim, H., Yeh, H.Y., Sharma, J.M., 2000. Characteristics of bursal T lymphocytes induced by infectious bursal disease virus. *J. Virol.*, 74: 8884-8892.

Lange, H., Müller, H., Kaufer, I., Becht, H., 1987. Pathogenic and structural properties of wild type infectious bursal disease virus (IBDV) and virus grown in vitro. *Arch. Virol.*, 97:187-196.

Lasher HN, Shane SM., 1994. Infectious bursal disease. *World's Poult Sci J*; 50:133-166.

Leong, J. C., Brown, D., Dobos, P., Kibenge, F., Ludert, J.E., Müller, H., Mundt, E., Nicholson, B., 2000. Birnaviridae. In: M.H.V. Regenmortel, C.M. Fouquet, D.H.L. Bishop, E.B. Carstens, M.K. Estes, S.M. Lemon, J. Manilof, M.A. Mayo, D.J. McGeoch, C.R. Pringle, R.B. Wickner (Eds.). *Virus Taxonomy Classification and Nomenclature of Viruses*, Academic Press, pp.481-490.

Lim, B.L., Cao, Y., Yu, T., Mo, C.W., 1999. Adaptation of very virulent infectious bursal disease virus to chicken embryonic fibroblasts by site-directed mutagenesis of residues 279 and 284 of viral coat protein VP2. *J. Virol.*, 73: 2854-2862.

Liu, J., Zhou, J., Kwang, J., 2002. Antigenic and molecular characterization of recent infectious bursal disease virus isolates in China. *Virus Genes*, 24: 135-147.

Lombardo, E., Marever, A., Cansten, J.R., Riviera, J., Fernandez-Arizoz, A., Serrano, A., Carracosa, J.L., Rodriguez, J.F., 1999. VP1 the putative RNA-dependent RNA polymerase of infectious bursal disease virus, form complexes with the capsid protein VP3. Leading to efficient encapsidation into virus-like particles, *Journal of virology*, 73: 6973-6983.

Lucio, B. and S. B. Hitchner. 1979. Infectious bursal disease emulsified vaccine: Effect upon neutralizing-antibody levels in the dam and subsequent protection of the progeny. *Avian Dis.*, 23: 466-478.

Lukert PD, Saif YM., 1997. Infectious bursal disease virus. In: Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW, McDougald LR, Saif YM, editors. *Diseases of poultry*. Ames: Iowa State University Press, pp. 721- 738.

Lukert, P.D. and Y.M. Saif, 1991. Infectious bursal disease. *Diseases of Poultry* B. W. Calnek, H. J. Barnes, C. W. Beard, W. M. Reid and H. W. Yoder (Ed.). 9th Edition. Iowa State University Press. Ames, Iowa, USA.

Macreadie, I. G., Vaughan P. R., Chapman A. J., McKern N. M., Jagadish M. N., Heine H. G., Ward C. W., Fahey K. J., and Azad A. A., 1990. Passive protection against infectious bursal disease virus by viral VP2 expressed in yeast. *Vaccine* 8:549—552.

McNulty MS, Allan GM, McFerran JB., 1979. Isolation of infectious bursal disease virus from turkeys. *Avian Pathol*; 8: 205- 212.

Mundt, E., Beyer, J., Müller, H., 1995. Identification of a novel viral protein in infectious bursal disease virus-infected cells. *Journal of General Virology*, 76: 437-443.

Mundt, E., Kollner, B., Kretzschmar, D., 1997. VP5 of infectious bursal disease virus is not essential for viral replication in cell culture, *Journal of Virology*, 71: 5647-5651.

Murphy, F.A., Fauquet, C.M., Bishop, D.H.L., Ghabriel, S.A., Jarvis, A.W., Martelli, G.P., Mayo, M.A., Summers, M.D., 1995. *Virus taxonomy. Classification and nomenclature of viruses*. Six report of international committee on taxonomy of viruses. *Arch. Viral.*, 10: 240-244.

Müller, H., Lange, H., Becht, H., 1986. Formation and Characterization and interfering capacity of a small plaque mutant and of incomplete virus particles of the infectious bursal disease virus (IBDV). *Virus Res.*, 4: 297-309.

Müller, H., Nitschke, R., 1987. The two segments of infectious bursal disease virus genom are circularized by a 90000-Da protein. *Virology*, 159: 174-177.

Müller, H., 1986. Replication of infectious bursal disease virus in lymphoid cells. *Arch.Virol.*, 87: 191-203.

Müller, H., Scholtissek, C., Becht, H., 1979. The genom of infectious bursal disease virus consists of two segments of double-stranded RNA. *J.Vitol.* 31: 584-589.

Nieper, H., Müller, H., 1996. Susceptibility of chickens lymphoid cells to infectious bursal disease virus does not correlate with the precence of spesific binding sites. *J. Gen. Virol.*, 77: 1229-1237.

Nieper, H., Müller, H., 1998. Rapid preparations of plasma membranes from avian lymphoid cells and fibroblasts fort he application in virus binding studies. *J. Virol. Methods*, 72: 153-162.

Nieper, H., Teifke, J.P., Jungman, A., Löhr, C., Müller, H., 1999. Infected and apoptic cells in the IBDV-infected bursa of Fabricius by double-labelling techniques. *Avian Pathol.*, 28: 279-285.

Ogawa, M., Yamaguchi, T., Setiyono,A., Ho, T., Matsuda, H., Furusawa, S., Fukishi, H., Hirai, K., 1998. Some characteristics of a cellular receptor for virulent enfectious bursal disease virus by using flow cytometry. *Arch. Virol.*, 143: 2327-2341.

Oppling, V., Müler, H., Becht, H., 1991a. Heterogeneity of the antigenic site responsible for the induction of neutralizing antibodies in enfectious bursal disease virus . *Arch.Virol.*, 119: 211-223.

Oppling, V., Müller, H., Becht, H., 1991b. The structural polypeptide VP3 of infectious bursal disease virus carries group and serotype specific epitopes. J. Gen. Virol., 72: 2275-2278.

Panigrahy, B., Mishra, L.K., Adams, L.G., 1982. Humoral and cell mediated immune response in chickens infectious bursal disease. Vet. Microbiol., 7: 383-387.

Parkhurst, R.T., 1964. Pattern of mortality in avian nephrosis. Poultry Sci., 43: 788-789.

Phenix, K.V., Wark, K., Luke, C.J., Skinner, M.A., Smyth, J.A., Mawhinney, K.A., Todd, D., 2001. Recombinant Semliki Forest virus vector exhibits Potential for avian virus vaccine development. Vaccine, 19: 3116-3123.

Pitcovski, J., Goldberg, D., Levi, B.Z., DiCastro, D., Azriel, A., Krispel, S., Maray, T., Shaaltiel, Y., 1998. Coding region of segment A sequence of a very virulent isolate of IBDV-comparisons with isolates from different countries and virulence. Avian Dis., 42: 497-506.

Raue, R., Islam, M.R., Islam, M.N., Islam, K.M., Badhy, S.C., Das, P.M., Müller, H., 2004a. Reversion of molecular engineered, partially attenuated very virulent infectious bursal disease virus during infection of commercial chickens. Avian Pathol., in press.

Rautenschlein, S., Yeh, H.Y., Njenga, M.K., Sharma, J.M., 2002a. Role of intrabursal T cells in infectious bursal disease virus (IBDV) infection: T cells promote viral clearance but delay follicular recovery. Arch. Virol., 147: 285-304.

Rautenschlein, S., Yeh, H.Y., Sharma, J.M., 2002b. The role of T cells in protection by an inactivated infectious bursal disease virus vaccine. Vet. Immunol. Immunopathol., 89: 159-167.

Repp, H., Nieper, H., Draheim, H.J., Koschinski, A., Müller, H., Dreyer, F., 1998. Infectious bursal disease virus infection changes the potassium current properties of chicken embryofibroblasts. *Virology*, 246: 362-369.

Rodenberger JK, Sharma JM, Balzer S, Nordgren R, Naqi S., 1994. Flow cytometric analysis of B-cell and T-cell subpopulations in specific pathogen-free chickens infected with infectious bursal disease virus. *Avian Dis.*, 38:16-21.

Sapats , S.I., Ignatovic, J., 2000. Antigenic and sequence heterogeneity of infectious bursal disease virus strains isolated in Australia. *Arch. Virol.* 145: 773-785.

Schnitzler, D., Bernstein, B., Müller, H., Becht, H., 1993. The genetic basis for the antigenicity of the VP2 protein of the infectious bursal disease virus. *Journal of General Virology*, 74: 1563-1571.

Sharma JM, Dohms JE, Metz AL., 1989. Comparative pathogenesis of serotype 1 and variant serotype 1 isolates of infectious bursal disease virus and their effect on humoral and cellular immune competence of specific pathogen-free chickens. *Avian Dis.*, 33:112-124.

Sharma, J.M., Kim, I.J., Rautenschlein, S., Yeh, H.Y., 2000. Infectious bursal disease virus of chickens: pathogenesis and immunosuppression. *Dev. Comp. Immunol.*, 24: 223-235.

Shaw, I., Davison, T.F., 2000. Protection from IBDV-induced bursal damage by a recombinant fowlpox vaccine, fpIBD1, is dependent on the titre of challenge virus and chicken genotype. *Vaccine*, 18: 3230-3241.

Skeels, J. K., Lukert P. D., Fletcher O. J., and Leonard J. D., 1979. Immunization studies with a cell-culture-adapted infectious bursal disease virus. *Avian Dis.*, 23: 456-465.

Synder, D.B., Lana, D.P., Cho, B.R., Marquardt, W.W., 1988. Group and strain specific neutralization sites of infectious bursal disease virus defined with monoclonal antibodies. *Avian Dis.*, 32: 527-534.

Tanimura N, Sharma JM., 1997. Appearance of T cells in the bursa of fabricius and cecal tonsils during the acute phase of infectious bursal disease virus infection in chickens. *Avian Dis.*, 41: 638-645.

Tsukamoto, K., Saito, S., Saeki, S., Sato, T., Tanimura, N., Isobe, T., Mase, M., Imada, T., Yuasa, N., Yamaguchi, S., 2002. Complete, long lasting protection against lethal infectious bursal disease virus challenge by a single vaccination with an avian herpesvirus vector expressing VP2 antigens. *J. Virol.*, 76: 5637-5645.

Tsukamoto, K., Tanimura, N., Kakita, S., Ota, K., Mase, M., Imai, K., Hihara, H., 1995. Efficacy of three live vaccines against highly virulent infectious bursal disease virus in chickens with or without maternal antibodies. *Avian Dis.*, 39: 218–229.

Van den Berg, T.P., 2000. Acute infectious bursal disease in poultry a review. *Avian Pathol.*, 29: 175-194.

Van den Berg, T.P., Gonze, M., Morales, D., Meulemans, G., 1996. Acute infectious bursal disease in poultry: immunological and molecular basis of antigenicity of highly virulent strain. *Avian Pathology*, 25: 751-768.

Van Loon, A.A., de Haas, N., Zeyda, I., Mundt, E., 2002. Alteration of amino acids in VP2 of very virulent infectious bursal disease virus results in tissue culture adaptation and attenuation in chickens. *J. Gen. Virol.* 83: 121-129.

Viswas, K.N., Muniyappa, L., Suryanarayana, V.V., Byregowda, S.M., 2002. Nucleotide sequence analysis of variable region of VP2 gene of two infectious bursal disease virus isolates from commercial poultry farms. *Acta Virol.*, 46: 95-101.

Wang, M.Y., Kuo, Y.Y., Lee, M.S., Doong, S.R., Ho, J.Y., Lee, L.H., 2000. Self-assembly of the infectious bursal disease virus capsid protein rVP2, expressed in insect cells and purification of immunogenic chimeric rVP2H particles by immobilized metal-ion affinity chromatography. *Biotechnol. Bioeng.*, 67: 104-111.

Whitfill, C.E., Haddad, E.E., Ricks, C.A., Skeeles, J.K., Newbery, L.A., Beasley, J.N., Andrews, P.D., Thoma, J.A., Wakenell, P.S., 1995. Determination of optimum formulation of a novel infectious bursal disease virus (IBDV) vaccine constructed by mixing bursal disease antibody with IBDV. *Avian Dis.*, 39: 687-699.

Wyeth, P. J. and Cullen G. A., 1978. Transmission of immunity from inactivated infectious bursal disease oil-emulsion vaccinated parent chickens to their chicks. *Vet. Rec.*, 102:362-363.

Yamaguchi, T., Ogawa, M., Inoshima, Y., Miyoshi, M., Fukushi, H., Hirai, K., 1996. Identification of sequence changes responsible for the attenuation of highly virulent infectious bursal disease virus. *Virology*, 223: 219-223.

Yeh, H.Y., Rautenschlein, S., Sharma, J.M., 2002. Protective immunity against infectious bursal disease virus in chickens in the absence of virus-specific antibodies. *Immunol. Immunopathol.*, 89: 149-158.

Yehuda, H., Goldway, M., Gutter, B., Michael, A., Godfried, Y., Levi, B.Z., Pitcovski, J., 2000. Transfer of antibodies elicited by baculovirus derived VP2 of very virulent infectious bursal disease virus strains to progeny of commercial breeder chickens. *Avian Pathol.*, 29: 13-19.

Zhang, M.F., Huang, G.M., Qiao, S., 2002. Early stages of infectious bursal disease virus in chickens detected by reverse transcription-polymerase chain reaction. *Avian Pathol.*, 31: 593-597.

Zierenberg, K., Raue, R., Müller, H., 2001. Rapid identification of 'very virulent' strains of infectious bursal disease virus by reverse transcription-

polymerase chain reaction combined with restriction enzyme analysis. *Avian Pathol.*, 30: 55-62.

Zierenberg, K., Raue, R., Nieper, H., Islam, M.R., Etteradossi, N., Toquin, D., Müller, H., 2003. Generation of serotype 1/serotype 2 reassortant viruses of the infectious bursal disease virus and their investigation in vitro and in vivo, submitted for publication.

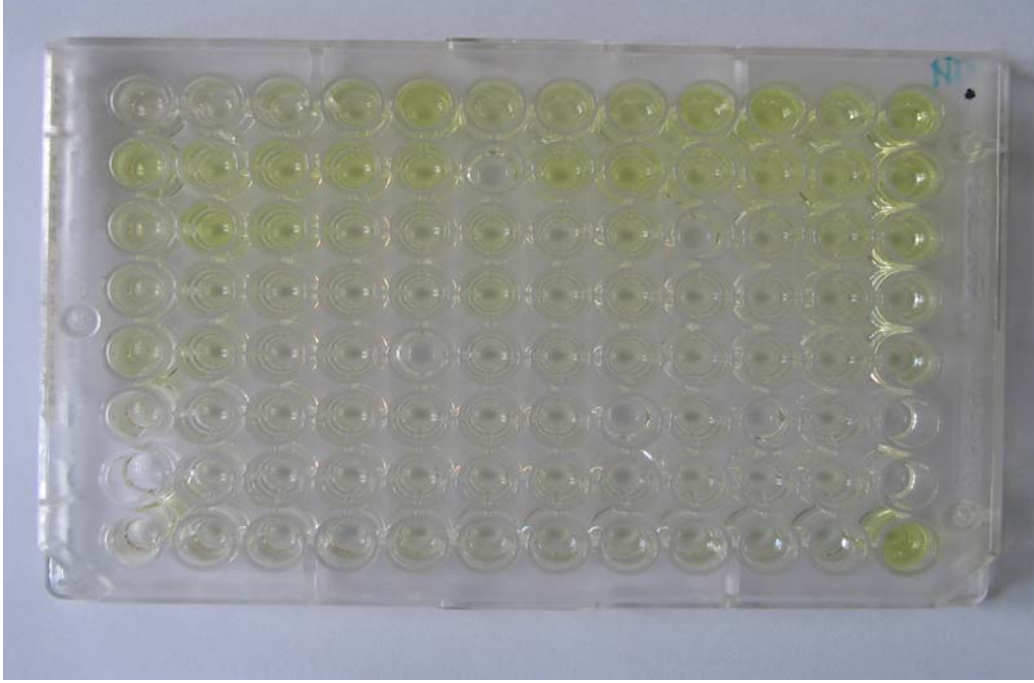
Zinkernagel, R.M., 1996. Immunology taught by viruses. *Science*, 271: 173–178.

ÖZGEÇMİŞ

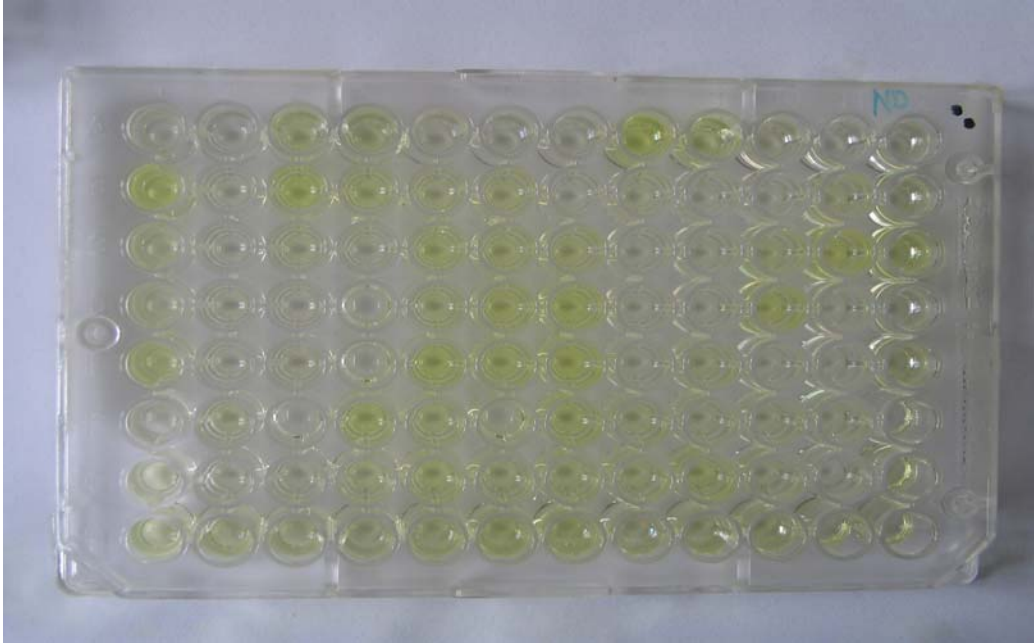
1974 Gaziantep doğumluyum. 1997 yılında Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesinden mezun oldum. 1997-2000 yılları arasında kanatlı sektörünün önde gelen bir entegrasyon firmasında teknik yönetici kadrosunda çalıştım. 2001 yılında kanatlı sektörüne ELİZA test sistemleri pazarlayan bir firmada teknik eleman olarak görev yaptım. 2002 yılından itibaren eşimle beraber kanatlı sektörüne hizmet veren bir firma kurduk ve halen bu işi sürdürmekteyiz.

Yabancı dil olarak İngilizce bilmekteyim. Evli ve bir çocuk annesiyim.

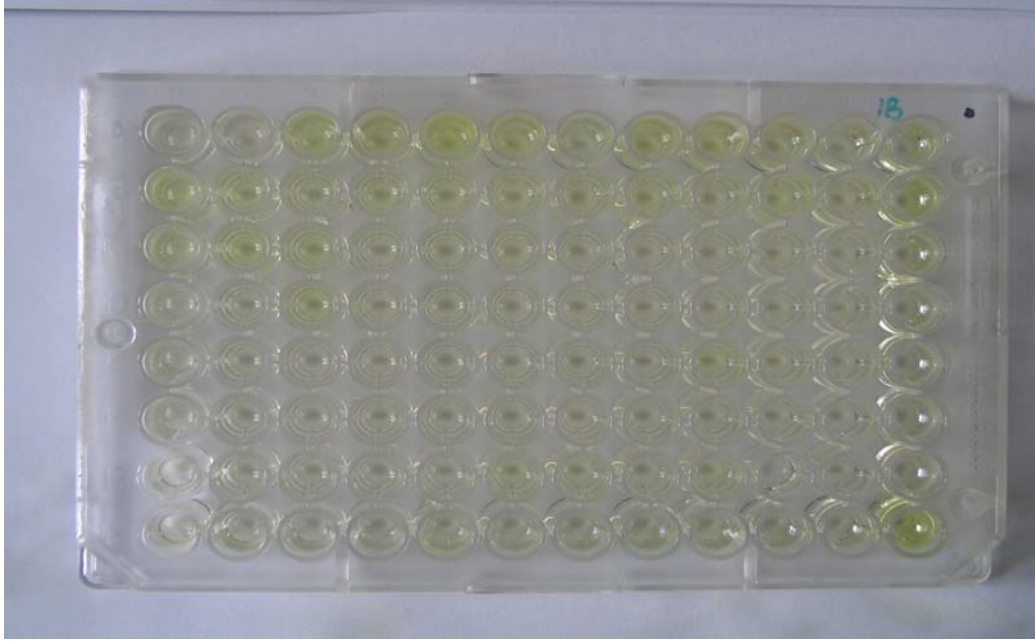
Şekil 1: İncelenen örneklerin, ND açısından ELISA test sonuçları 1



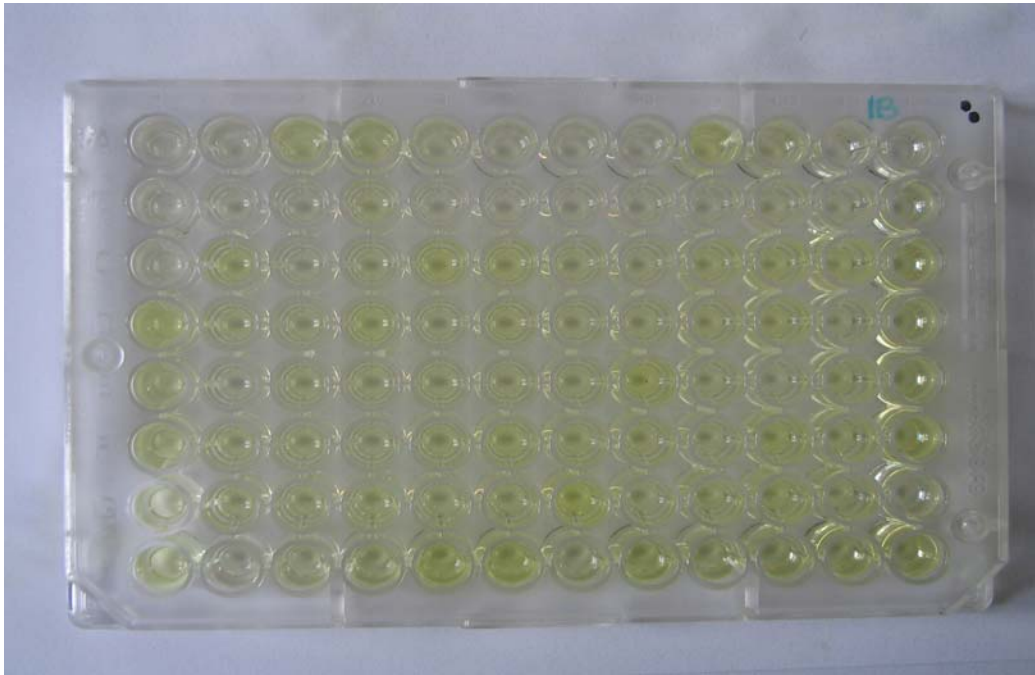
Şekil 2: İncelenen örneklerin, ND açısından ELISA test sonuçları 2



Şekil 3: İncelenen örneklerin, IB açısından ELISA test sonuçları 1



Şekil 4: İncelenen örneklerin, IB açısından ELISA test sonuçları 2



Şekil 5: İncelenen örneklerin, IBD açısından ELISA test sonuçları 1



Şekil 6: İncelenen örneklerin, IBD açısından ELISA test sonuçları 2



Şekil 7: Araştırmada kullanılan ELISA test kitlerinin görünümü

