

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**Broyler Damızlık ve Ticari Broyler Sürülerinde
Tavuk Anemi Virüsünün ve Antikor Varlığının
Araştırılması**

Şinasi AŞKAR

**MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
(DOKTORA TEZİ)**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Murat YILDIRIM**

2010–KIRIKKALE

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**Broyler Damızlık ve Ticari Broyler Sürülerinde
Tavuk Anemi Virüsünün ve Antikor Varlığının
Araştırılması**

Şinasi AŞKAR

**MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
(DOKTORA TEZİ)**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Murat YILDIRIM**

Bu tez, Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (No: K.Ü.BAP 2007/01-2008/52) tarafından desteklenmiştir.

2010–KIRIKKALE

Kırıkkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Veteriner Mikrobiyoloji Doktora Programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma
aşağıdaki jüri üyeleri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 15.02.2010

İmza

Prof. Dr. Mehmet AKAN
Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Jüri Başkanı

İmza

Doç. Dr. Murat YILDIRIM
Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Üye

İmza

Doç. Dr. Aylin KASIMOĞLU DOĞRU
Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Üye

İmza

Doç. Dr. A.Kürşat AZKUR
Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Üye

İmza

Yrd. Doç. Dr. Nilgün ÜNAL
Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Üye

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay.....	II
İçindekiler.....	III
Önsöz.....	VI
Simge ve Kısaltmalar.....	VII
Şekiller.....	IX
Grafikler.....	X
Çizelgeler.....	XI
ÖZET	1
SUMMARY	3
1. GİRİŞ	5
1.1. Genel Bilgiler.....	7
1.1.1. Tavuk İnfeksiyöz Anemi (CIA) Hastalığının Tarihçesi.....	7
1.1.2. Tavuk Anemi Virüs (CAV)'ünün Sınıflandırılması ve Yapısal Özellikleri.....	8
1.1.3. CAV Replikasyonu.....	12
1.1.4. CAV'ın Çoğaltılması.....	13
1.1.5. CAV'ın Kimyasal ve Fiziksel İnaktivasyonu.....	14
1.1.6. CIA Hastalığının Epidemiyolojisi.....	15
1.1.7. Türkiye'de CIA Hastalığı.....	20
1.1.8. CIA Hastalığında Patogenez.....	22
1.1.9. CIA Hastalığının Klinik ve Patolojik Bulguları.....	27
1.1.10. CIA Hastalığının Laboratuvar Teşhisi.....	29
1.1.11. CIA Hastalığında Koruma ve Kontrol.....	31
2. GEREÇ ve YÖNTEM	35
2.1. Gereç	35
2.1.1. Örnekleme Yapılan Sürüler ve Elde Edilen Numuneler.....	35

2.1.1.1. Aşılı broyler damızlık sürülerinden elde edilen numuneler.....	35
2.1.1.2. Aşısız broyler damızlık sürülerinden elde edilen numuneler.....	35
2.1.1.3. Aşılı damızlıkların ticari broyler sürülerinden elde edilen numuneler.....	35
2.1.1.4. Aşısız damızlıkların ticari broyler sürülerinden elde edilen numuneler.....	36
2.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	40
2.1.2.1. Enzyme-linked immuno sorbent assay (ELISA).....	40
2.1.2.2. Polymerase chain reaction (PCR).....	40
2.1.3. Kullanılan Cihaz ve Ekipmanlar.....	42
2.2. Yöntem	42
2.2.1. ELISA ile Serum CAV Antikorlarının Belirlenmesi.....	42
2.2.1.1. Testin yapılışı.....	42
2.2.1.2. Test sonuçlarının değerlendirilmesi.....	43
2.2.2. PCR ile Viral DNA'nın Belirlenmesi.....	44
2.2.2.1. Doku örneklerinden DNA ekstraksiyonu.....	44
2.2.2.2. DNA ekstraktlarının çoğaltılması.....	45
2.2.2.3. Çoğaltılan DNA'ların görüntülenmesi.....	46
2.2.3. İstatistiki Analizler.....	46
3. BULGULAR	47
3.1. Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) Bulguları.....	47
3.1.1. Aşılı Broyler Damızlık Sürülerinin ELISA Bulguları.....	47
3.1.2. Aşısız Broyler Damızlık Sürülerinin ELISA Bulguları.....	49
3.1.3. Aşılı ve Aşısız Broyler Damızlıkların Antikor Titrelerinin Karşılaştırılması.....	51
3.1.4. Aşılı Damızlıklardan Elde Edilen Ticari Broyler Sürülerinin ELISA Bulguları.....	51
3.1.5. Aşısız Damızlıklardan Elde Edilen Ticari Broyler Sürülerinin ELISA Bulguları.....	56
3.2. PCR Bulguları.....	59

3.2.1. Aşılı Damızlıklardan Elde Edilen Ticari Broyler Sürülerinin PCR Bulguları.....	59
3.2.2. Aşısız Damızlıklardan Elde Edilen Ticari Broyler Sürülerinin PCR Bulguları.....	59
3.2.3. VP1 ve O3 Gen Primerleri Kullanılarak Yapılan PCR Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	59
4. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	63
KAYNAKLAR.....	69
ÖZGEÇMİŞ.....	78

ÖNSÖZ

Tavuk infeksiyöz anemi (chicken infectious anemia-CIA) hastalığı immunsupresif olması, subklinik seyretmesi, aşı bağıışıklığını olumsuz etkilemesi, ekonomik kayıplara neden olması, virüsün vertikal ve horizontal yolla bulaşması, dezenfeksiyona dirençli olması ve ticari broyler sürülerinde CIA hastalığına karşı koruyucu bir aşılamanın olmaması nedeniyle önemlidir. Dünyada tavuk üretimi yapan birçok ülkede hastalığın prevalansının yüksek olduğu bildirmiştir. Çalışmada CIA hastalığına karşı aşıllı ve aşısız broyler damızlık sürülerinde antikor varlığı, bu damızlıklardan elde edilen ticari broyler sürülerinde maternal antikor ve antikor varlığı ELISA ile araştırılırken, ticari broyler sürülerinde virüs varlığı PCR ile araştırılmıştır. Bu tezde elde edilen bilgiler hastalıktan koruma ve kontrol stratejilerinin geliştirilmesine katkıda bulunacaktır.

Doktora eğitimim süresince destek, ilgi ve hoşgörülerini esirgemeyen, tez konumun belirlenmesinde ve yürütülmesinde deneyimlerinden yararlandığım, danışmanım Sayın Doç. Dr. Murat YILDIRIM' a çok teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında sağladıkları değerli imkânlarla araştırmanın yapılmasına katkıda bulunan Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Mehmet AKAN ve Etlik Merkez Veteriner Araştırma Enstitüsü Kanatlı Laboratuvar şefi Dr. Asiye DAKMAN' a,

Doktora çalışmam boyunca yardım ve yakın ilgilerini gördüğüm Doç. Dr. A. Kürşat AZKUR'a, Yrd. Doç. Dr. Nilgün ÜNAL'a, Arş. Gör. Fatma SAKARYA'ya ve Uzman Biyolog Oya DOĞU ÇINAR'a, yetişmemde büyük özveri gösteren ANNEME ve BABAMA, yanlarında olamadığım ve her zor anımda desteğini esirgemeyen EŞİM ile KIZIMA teşekkür ederim.

SİMGE VE KISALTMALAR

AA	Amino asit
bp	Base pair
CAV	Chicken anemia virus (Tavuk anemi virüsü)
CIA	Chicken infectious anemia (Tavuk infeksiyöz anemi)
CAA	Chicken anemia agent
dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik asit
dNTPs	Deoksiribonükleotit trifosfat
DR	Direct repeat
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
g	Gram
GM	Geometrik mean
HRPO	Horseradish peroxidase
IBDV	Infectious bursal disease virus
ICTV	International committee on taxonomy of viruses
Kbp	Kilo base pair
kDa	Kilo-dalton
M	Molar
MA	Monoklonal antikor
MDCC-MSB1	Marek's disease virus transformed chicken lymphoblastic T-cells
MDV	Marek's disease virus
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
mg	Miligram
ml	Mililitre
mM	Milimolar
NDV	Newcastle disease virus
ng	Nanogram
nm	Nanometre
OD	Optik dansite

ORF	Open reading fream
PBFDV	Psittacine beak and feather disease virus
PCR	Polymerase chain reaction
PCV	Porcine circovirus
pmole	Pikomole
°C	Santigrat
S/N	Serum negatif oranı
SD	Standart deviation
SN	Serum nötralizasyon
ss	Single stranded
Taq	Thermus aquaticus
TBE	Tris borate EDTA buffer
TE	Tris-EDTA Buffer
TTV	Torgue teno virus
V	Volts
VN	Virüs nötralizasyon
%	Yüzde

ŞEKİLLER

- Şekil 1.1. CAV DNA'sının pozitif iplik nükleotit dizilimi
- Şekil 1.2. CAV'nin elektron mikroskop görüntüsü
- Şekil 1.3. CAV genom organizasyonu
- Şekil 1.4. CAV'nin T hücre gelişimi ve hematopoezis üzerine etkileri
- Şekil 1.5. CAV'nin farklı yüzey markırlı timik öncü T hücreleri üzerine etkisi
- Şekil 3.1. Aşılı 27 ve 54 haftalık damızlıkların 2 ve 3 haftalık ticari broyler sürülerinden alınan doku örneklerinde CAV VP1 gen varlığı
- Şekil 3.2. Aşılı 27 ve 54 haftalık damızlıkların 4 ve 5 haftalık ticari broyler sürülerinden alınan doku örneklerinde CAV VP1 gen varlığı
- Şekil 3.3. Aşılı 32, 35, 45 ve 47 haftalık damızlıkların 5 haftalık ticari broyler sürülerinden alınan doku örneklerinde CAV VP1 gen varlığı
- Şekil 3.4. Aşılı 27 ve 54 haftalık damızlıkların 2 ve 3 haftalık ticari broyler sürülerinden alınan doku örneklerinde CAV VP3 gen varlığı
- Şekil 3.5. Aşılı 27 ve 54 haftalık damızlıkların 4 ve 5 haftalık ticari broyler sürülerinden alınan doku örneklerinde CAV VP3 gen varlığı
- Şekil 3.6. Aşılı 32, 35, 45 ve 47 haftalık damızlıkların 5 haftalık ticari broyler sürülerinden alınan doku örneklerinde CAV VP3 gen varlığı

GRAFİKLER

- Grafik 3.1. Aşılı 27 ve 54 haftalık damızlıkların ticari broyler sürülerinin haftalara göre ortalama seropozitiflik oranları
- Grafik 3.2. Aşısız 40 ve 60 haftalık damızlıkların ticari broyler sürülerinin haftalara göre ortalama seropozitiflik oranları

ÇİZELGELER

- Çizelge 1.1. Coğrafiik orijinlerine göre bazı CAV suşları
- Çizelge 2.1. Örnekleme yapılan broyler damızlık sürüleri ve elde edilen numuneler
- Çizelge 2.2. Örnekleme yapılan ticari broyler sürüleri ve elde edilen numuneler
- Çizelge 2.3. ELISA kitinin içeriği
- Çizelge 2.4. DNA ekstraksiyon kitinin içeriği
- Çizelge 2.5. Kullanılan primerler
- Çizelge 2.6. 1:10 örnek dilüsyonun ELISA testi sonuç değerlendirmesi
- Çizelge 2.7. 1:100 örnek dilüsyonun ELISA testi sonuç değerlendirmesi
- Çizelge 2.8. 1:100 örnek dilüsyonun ELISA gruplandırması
- Çizelge 2.9. PCR karışımının içeriği
- Çizelge 2.10. PCR' de termal cyclus koşulları
- Çizelge 3.1. Aşılı broyler damızlık sürülerinin koruyucu antikor titre grupları
- Çizelge 3.2. Aşılı broyler damızlık sürülerinin ortalama antikor titreleri
- Çizelge 3.3. Aşısız broyler damızlık sürülerinin koruyucu antikor titre grupları
- Çizelge 3.4. Aşısız broyler damızlık sürülerinin ortalama antikor titreleri
- Çizelge 3.5. Aşılı ve aşısız broyler damızlıklarının ortalama antikor titreleri
- Çizelge 3.6. Aşılı 27 haftalık damızlıkların ticari broyler sürülerinin haftalara göre seropozitiflik oranı
- Çizelge 3.7. Aşılı 54 haftalık damızlıkların ticari broyler sürülerinin haftalara göre seropozitiflik oranı
- Çizelge 3.8. Aşılı 32, 35, 45 ve 47 haftalık damızlıkların ticari broyler sürülerinin günlük ve 5 haftalık seropozitiflik oranı
- Çizelge 3.9. Aşılı damızlıklardan elde edilen günlük civcivlerin maternal antikor koruyuculuk düzeyleri

- Çizelge 3.10. Aşısız 40 haftalık damızlıkların ticari broyler sürülerinin haftalara göre seropozitiflik oranı
- Çizelge 3.11. Aşısız 60 haftalık damızlıkların ticari broyler sürülerinin haftalara göre seropozitiflik oranı
- Çizelge 3.12. Aşısız damızlıklardan elde edilen günlük civcivlerin maternal antikor koruyuculuk düzeyleri

ÖZET

Broyler Damızlık ve Ticari Broyler Sürülerinde Tavuk Anemi Virüsünün ve Antikor Varlığının Araştırılması

Tavuk infeksiyöz anemi (chicken infectious anemia-CIA), tavuk anemi virüsünün (chicken anemia virus-CAV) neden olduğu immünosupresif viral bir hastalıktır.

Bu çalışmada, CIA hastalığına karşı aşıli ve aşısız broyler damızlık sürülerinde CAV antikor varlığı ve bu damızlıkların ticari broyler sürülerinde CAV maternal antikor seyri, antikor ve virüs varlığını araştırmak amaçlandı.

Haziran 2008- Şubat 2009 tarihleri arasında CIA hastalığına karşı 6'sı aşıli, 6'sı aşısız broyler damızlık sürülerinden 218 kan serumu ve bu damızlıklardan elde edilen 32 ticari broyler sürüsünden (günlük, 1, 2, 3, 4 ve 5 haftalıkken) 2074 kan serumu ve 1916 doku örneği elde edildi. Elde edilen toplam 2292 serum örneğinde CAV antikor varlığı enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) ile incelenirken, her bir sürüden alınan doku örneklerinin homojenizasyonu ile elde edilen 104 doku homojenatında CAV VP1 ve O3 gen varlığı polymerase chain reaction (PCR) ile incelendi.

Aşıli ve aşısız damızlıklar seropozitif saptanırken, ortalama antikor titreleri karşılaştırıldığında istatistikî olarak önemli bir fark olmadığı belirlendi ($p>0.05$).

Aşıli ve aşısız damızlıkların günlük ve 1 haftalık ticari broyler sürülerinde maternal antikor oranının % 98 - 100 arasında bulunduğu, 2 haftalıkken % 5 – 60 arasında olduğu, 3 haftalıkken bu oranının % 0 - 15 arasında olduğu ve maternal antikor titresinin koruyucu düzeyde olmadığı belirlendi. Aşıli damızlıkların 4 haftalık 8 ticari broyler sürüsünün % 62.5'inde, 5 haftalık 16 ticari broyler sürüsünün % 93.8'inde CAV antikor varlığı belirlendi. Aşıli damızlıkların 3 haftalık 8 ticari broyler sürüsünün % 25'inde, 4 haftalık 8 ticari broyler sürüsünün % 37.5'inde, 5 haftalık 16 ticari broyler sürüsünün % 37.5'inde CAV VP1 ve O3 gen varlığı

belirlendi. Aşısız broyler damızlıkların ticari broyler sürülerinde ise CAV antikor ve CAV VP1 ile O3 gen varlığı tespit edilmedi.

Anahtar Kelimeler: Antikor, Broyles, PCR, Seroprevalans, Tavuk Anemi Virüs

SUMMARY

The Investigation of Chicken Anemia Virus and Its Antibody Existence in Commercial Broiler and Broiler Breeder Flocks

Chicken infectious anemia (CIA) is a immunosuppressive viral disease caused by chicken anemia virus (CAV).

In this study was aimed to investigate the antibody existence against CAV in broiler breeder flocks with and without vaccination as well as the dynamics of maternal antibody, existence of antibody and CAV in commercial broiler flocks which progeny of these breeders.

Between June 2008 and February 2009, 218 of blood sera samples were obtained from 6 of flocks vaccinated and 6 of flocks non-vaccinated which are different age. A total of 2074 of sera samples and 1916 of tissues samples were obtained from 32 of commercial broiler flocks (at 1 day, 1, 2, 3, 4 and 5 weeks) which progeny of vaccinated and non-vaccinated breeders. The existence of CAV antibodies were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in all of the 2292 sera samples and the existence of CAV DNA were detected by polymerase chain reaction (PCR) in 104 of tissues homogenates.

Vaccinated and non-vaccinated breeder were detected seropositive and comparison between mean antibody titration was not statistically significant ($p>0.05$).

In the commercial broiler flocks which were progeny of vaccination and nonvaccination breeders, the rates of maternal antibodies were detected between 98 % – 100 % in daily and weekly ages, however, in 2-weeks ages, the rates were between 5 % - 60 % in flocks and in 3-weeks ages, the rates were between 0 – 15 % and defined as non-protective titration in many flocks. In the 8 commercial broiler flocks with 4-weeks ages, progeny of vaccinated-breeders, the antibody existence were detected at the rate of 62.5 %. On the other hand, in the 16 commercial broiler flocks with 5-weeks ages, progeny of vaccinated-breeders, the rate was 93.8 %. CAV

VP1 and O3 genes were detected in 25 % of 3-weeks 8 commercial broiler flocks, 37.5 % of 4-weeks 8 commercial broiler flocks and in 37.5 % of 5-weeks 16 commercial breeder flocks which progeny of vaccination breeders. However, CAV antibody, CAV VP1 and O3 genes were not detected in the 8 commercial broiler flocks which progeny of without vaccination breeder.

Key Words: Antibody, Broiler, Chicken anemia virus, PCR, Seroprevalence

1. GİRİŞ

Türkiye’de tavukçuluk sektörü 20. yüzyıl ortalarında gelişmeye başlamış ve günümüzde hayvancılık sektörü içerisinde en hızlı gelişen ve büyüyen sektör haline gelmiştir. Bu gelişmede özellikle insanların protein ihtiyaçlarını ekonomik olarak karşılaması önemli bir etken olmuştur (Akan 2002).

Hayvan yetiştiriciliğinde başlıca amaç, en yüksek verimi en ekonomik şekilde elde etmektir. Bu amaca ulaşmada etkili beslenme, uygun çevre koşulları, hastalıklardan koruma ve kontrol, karlı bir üretimin gereği ve kaçınılmaz koşuludur. Bakım, hijyen, biyogüvenlik ve kontrol stratejilerindeki eksiklikler infeksiyöz ve infeksiyöz olmayan hastalıkların oluşmasına ve buna bağlı olarak ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bütün dünyada ekonomik kayıplara neden olan ve tavukçuluk sektörünü tehdit eden önemli viral hastalıklardan biri de Tavuk anemi virüs (chicken anemia virus- CAV)’ünün neden olduğu, Tavuk infeksiyöz anemi (chicken infectious anemia-CIA) hastalığıdır (Akan 2002, Akay 2002).

Tavuk infeksiyöz anemi hastalığı özellikle genç hayvanlarda (civciv) şiddetli anemi, kemik iliği aplazisi, lenfoid atrofi ile seyreden, ekonomik kayıplar ve önemli sağlık problemlerinden sorumlu viral bir hastalıktır (Yuasa ve ark. 1979). Hastalık, immünosupresif etkisinin olması, aşı bağışıklığını olumsuz etkilemesi, sekonder enfeksiyonlara neden olması, subklinik seyretmesi, teşhisinin zor olması, tedavi edilememesi, virüsün vertikal ve horizontal yolla bulaşması, dezenfeksiyona dirençli olması ve ticari broyler sürülerinde koruyucu bir aşılamanın olmaması nedeniyle önemlidir (Schat 2003).

Tavuk infeksiyöz anemi hastalığı ile ilgili Türkiye ve diğer ülkelerde yapılan araştırmalar, yumurtacı tavuklarda, damızlıklarda ve ticari broyler sürülerinde CAV varlığını serolojik ve moleküler yöntemlerle belirleyerek, hastalığın prevalansının yüksek olduğunu göstermiştir (Schat 2003, Hadimli ve ark. 2008)

Hastalıktan korunmada mevcut en önemli strateji damızlıkların yumurtlama periyodu öncesi yeterli koruyucu antikor titresine sahip olması, buna bağı olarak virüsün vertikal yolla bulaşmasının önlenmesi ve civcivlere yeterli maternal antikor geçişinin sağlanması esasına dayanır (Schat 2003, Voss 2000).

Bu tezde; CIA hastalığına karşı aşı ve aşısız farklı yaşlardaki broyler damızlık sürülerinde CAV antikor varlığını, damızlık yaşının damızlık antikor titresini ve civcivlere geçen maternal antikor düzeyini üzerine etkisini, ticari broyler sürülerinde maternal antikor seyrini, antikor ve CAV DNA varlığını araştırmak amaçlandı.

1.1. Genel Bilgiler

Tavuk infeksiyöz anemi (Chicken infectious anemia-CIA) hastalığı, tavuk anemi virüs (Chicken anemia virus- CAV)'ünün neden olduğu generalize lenfoid atrofi ve aplastik anemi ile karakterize, immünosupresyon ile seyreden viral bir hastalıktır. Hastalık immünosupresyona neden olduğu için aplastik anemi, mavikanat hastalığı ve hemorajik sendrom ile ilişkili multifaktörlü hastalıkların birçoğunun etiolojisinde yer aldığı bildirilmiştir (Schat 2003, Yuasa 1987, Pope 1991).

1.1.1. Tavuk İnfeksiyöz Anemi (CIA) Hastalığının Tarihçesi

Tavuk anemi virüs (Gifu-1 suşu) ilk olarak Yuasa ve ark. (1979) tarafından reovirüs ile kontamine Marek aşısı üzerine çalışmaları sırasında Japonya'da izole edilmiştir. CIA hastalığının tanımlanmasından sonra, Jakowski ve ark. 1970 yılında yaptıkları çalışmalarında Marek hastalık virüsü ile enfekte tavuklarda belirledikleri hematopoetik yıkımın CIA hastalığı ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Virüsün izolasyonunun ardından CAV ile ilgili çalışmalar başlamış, hastalığın patogenezi ve epizootiyolojisi hakkında bilgiler artmıştır. Bu araştırmalarda elde edilen bilgiler hızlı, kolay teşhis metotları ile aşılarda gelişmesine ve DNA sekansında farklılıkların belirlendiği çeşitli suşların identifikasyonuna imkân sağlamıştır (Vielitz ve Landgraf 1988, Chandratilleke 1991, Iwata ve ark. 1998, Noteborn ve ark. 1998).

Tavuk infeksiyöz anemi hastalık etkeni uzun yıllar chicken anemia agent (CAA) olarak isimlendirilmiştir (Yuasa ve ark. 1979). Virüsün morfolojik ve biyokimyasal özellikleri hakkında bilgiler elde edildikten sonra, chicken anemia virus olarak, bazı yayınlarda ise chicken infectious anemia virus olarak isimlendirilmektedir. Uluslararası virüs taksonomi komitesi tarafından chicken anemia virus olarak kabul edilmiştir (international committee on taxonomy of viruses-ICTV 2009).

1.1.2. Tavuk Anemi Virüs (CAV)'ünün Sınıflandırılması ve Yapısal Özellikleri

Tavuk anemi virüs *Circoviridae* familyasının *Gyrovirus* genusunda yer alan tek virüstür. Goose circovirus, canary circovirus, porcine circovirus (PCV), psittacine beak and feather disease virus (PBFDV), pigeon circovirus ve insanlarda hastalık oluşturan torque teno virus (TTV) aynı ailede yer alan virüslerdir. CAV negatif sense, sirküler, tek iplikli (single strand-ss) DNA'ya sahip, ikosahedral simetrik, 32 kapsomerli, zarfsız ve 23.5 nm çapa sahip en küçük hayvan virüslerinden biridir (ICTV 2009). Çeşitli araştırmacılar virüsün çapını 19.1 ile 26.5 nm aralığında olduğunu saptamışlardır (Gelderblom ve ark. 1989, Todd ve ark. 1990a, McNulty 1990b, McNulty ve ark. 1991). Promoter- Enhancer (destekleyici-güçlendirici) bölgede yer alan 21 bazlık direkt tekrarın (Direct repeat-DR) sırasıyla 4 veya 5 kere olmasına bağlı olarak replikatif formdaki viral genomun 2298 (CuxN, Cux10, CAA 82-2) veya 2319 (CuxM, 26P4, CIA-1,TK-5803) baz içerdiği bildirilmiştir (Şekil 1.1.) (Classens ve ark. 1991, Noteborn ve ark. 1991, Meehan ve ark. 1992, Kato ve ark. 1995).

Tavuk anemi virüs izolatlarının birçoğunda genom 4 direkt tekrara sahiptir. Bu direkt tekrarların ortasına 12 baz yerleşmiştir. Fakat Marek's disease (MD) lymphoblastoid cell line (MDCC)-MSB1 hücrelerinde Cux-1 izolatının yaklaşık 30 pasaj sonrasında 5 direkt tekrarı olduğu gözlemlenmiştir. DR'ler ve ortaya yerleşmiş 12 bazlık bölgeye, farklı transkripsiyonel faktörler bağlanır (Şekil 1.1.) (Noteborn ve ark. 1991, Meehan ve ark. 1992, Todd ve ark. 1995). Optimal transkripsiyon için DR ve 12 bazlık bölgelere transkripsiyon faktörlerinin bağlanması gerektiği ve eğer ilk iki DR delasyona uğrarsa transkripsiyonel aktivitenin % 40-50 azalacağı bildirilmiştir (Phenix ve ark. 1994).

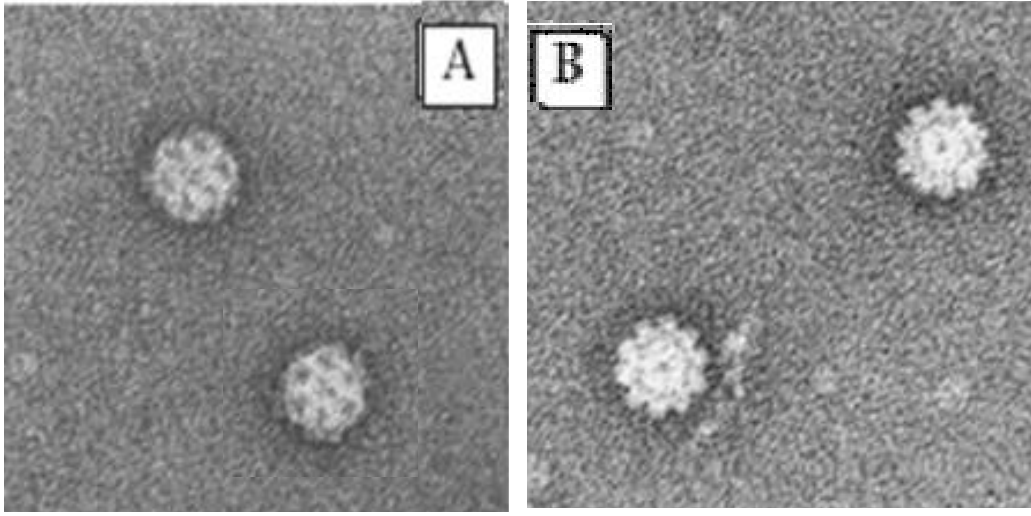
```

GAATTCGAGTGGTTACTATTCCATCACCATTCTAGCCTGTACACAGAAAGTCAAGATGGAGCAATCGCTCGACTTCGCTCGATTCGCGAAGCGCGGGGGCCCGAGGCCCCCGGGT 120
      (-----1-----)(-----2-----)(-----3-----)      (-----4-----)(
GCCCCCTCCACGAGTGGAGCACGTACAGGGGGTACGTCATCCGTACAGGGGGTACGTCATCCGTCACAGGGGGTACGTCACAAAGAGGGCTTCCGTCACAGGGGGTACGTCACAGC 240
      a           a           a           a           a
-----5-----)
GTACAGGGGGTACGTCACAGCCAATCAAAGCTGCCACCTTGGCGAAAGTACGTTTCGAAAGTGGCGGGCGAAGCCTCTCTATATATTAGCGCACATACCGGTCAGTAGGTATA 360
      a           b           c           d           -----cap-----
      M H G N G G Q P A A G G S E S A L S R E G O P G P S G A A O G O V I
CGAAGCGGTCGGGGTGGATGCACGGGAACGGCGGACACCGGCCGCTGGGGGCGATGAAATCGGCGCTTAGCCGAGAGGGGCAACTGGGCCAGCGGAGCCGCGAGGGCAAGTAAT 480
      M N A L O E D T P F G P S T V F R P P T S S R P L E T P H C R E I R I G I A
S N E R S F R R Y S T R T I N G V O A T N K F T A V G N P S L O R D F D W Y R W
TTCAATGAACGCTCTCAAGAGATACTCCACCGGACCATCAACGGTGTTCAGGCCACCAAGATTCACGGCCGTTGGAAACCCCTCACTGAGAGAGATCCGGATTGGTATCGCTG 600
      G I T I T L S L C G C A N A R A P T L R S A T A D N S E S T G F K N V P D L R T
N Y N H S I A V W L R E C S R S H A K I C N C G O F R K H W F Q E C A G L E D R
GAATTAACACTCTATCGCTGTGTGGCTGCGCAATGCTCGCGCTCCACGCTAAGATCTGCAACTGCGGACAATTGAGAAAGCACTGTTCAAGAAATGTCCCGACTGGAGGACCG 720
      D O P K P F S K K R S C D P S E Y R V S E L K E S L I T T T P S R P R T A K R R
S T Q A S L E E A I L R P L R V O G K R A K R K L D Y H Y S O P T P H R K K A Y
ATCAACCAAGCCTCCCTCGAAGAGCGATCCTGCGACCCCTCCGAGTACAGGGTAAGCGAGTAAAGAAAGCTTGATTACCACTACTCCAGCCGAGCCGCAAGCCGAAAAGGCGTA 840
      M A R R A R R P R G R F Y S F R R G R W H H L K R L R R R Y K F R H R R
I R L *
K T V R W O D E L A D R E A D F T P S E E D G G T T S S D F D E D I N F D I G G
TAAGACTGAAGATGGCAAGACAGCTCGCAGACCGAGGGCCGATTTACTCCTTCAAGAGAGAGCGGTGACCACTCAAGCGACTTCGACGAGATATAAATTTCCACATCGGAGG 960
      R O R Y R R R A F R K A F H N P R P G T Y S V R L P N P O S T M T I R F O G V I
D S G I V D E L L G R P F T T P A F V R I V *
AGACAGCGGTATCTAGACGAGCTTTAGGAAGCCTTTCAACCCCGCCCGGTAGCTATAGTGTGAGGCTGCCGAACCCCAATCTACTATGACTATCCGCTTCAAGGGGTCATC 1080
      F L T E G L I L P K H S T A G G Y A D H M Y G A R V A K I S V H L K E F L L A S
TTTCTCAAGAGACTCATTCTGCTTAAACAGCACAGCGGGGGCTATGCGAGACCAGATGACGGGGGAGAGTGGCCAAAGATCTCTGTGAACCTGAAGAGTTCCTGCTAGCCTCA 1200
      M N L T Y V S K I G G P I A G E L I A D G S K S O A A D N W P H C W L P L D N H
ATGAACCTGACATACGTAGCAAAATCGAGGGCCCATCGCCGGTGAATGATGCGGACGGCTAAATCAACAAGCCGCGGACAATGGCCTAATGTGCTGCGCCGTAGATAATAAC 1320
      V P S A T P S A W N R W A L M H M O P T D S C R F F N H P K O M T L O D M G R M
GTGCCCTCCGCTACACCATCGGCGATGGAGATGGCCCTTAATGATGATGAGCCACGGACTCTGCGGGTCTTTAATCACCAAGAGAGATGACCCCTGCAAGCATGGGTCGATG 1440
      F G G W H L F R H I E T R F O L L A T K N E G S F S P V A S L L S O G E Y L T R
TTTGGGGCTGCGACCTGTTCCGACACATTGAAACCGCTTTCAGCTCCTTGCCTAAGAAAGAGGGATCCTTCAAGCCCGTGGCGAGTCTTCTCCAGGGAGAGTACCTCACGCGT 1560
      R D D V K Y S S D H O N R W O K G G O P M T G G I A Y A T G K H R P D E O O Y P
CGGGAGCATGTTAAGTACAGCAGCGATCACCAGAACCGGGTGCAAAAGCGGACAACCGATGACGGGGGGCATTGCTTATGCGACCGGGAAAATGAGACCCGACGAGAACAGTACCT 1680
      A M P F D P P I I T A T T A O G T Q V R C H N S T Q A W W S W D T Y H S F A T L
GCTATGCCCCAGACCCCGGATCATCCGCTACTACAGCGCAAGGACGCAAGTCCGCTGATGAATAGCAGCAAGCTTGGTGTGATGATATATAGCTTTGCAACACTC 1800
      T A L G A O N S F P P G O R S V S R E S F N H H K A R G A G D P K G Q R W H T L
ACAGCACTCGGTGACAAATGGTCTTTCTCCAGGGCAAGCTTCAAGTTCTAGACGGTCTTCAACCAACCAAGGCGAGAGGAGCCGGGGACCCCAAGGGCCAGAGATGGCACAGCTG 1920
      V P L G T E T I T D S Y M S A P A S E L D T H F F T L Y V A O G T H K S O O Y K
GTGCCGCTCGGCGAGAGACCATCACCGACAGCTACATGTCAGCACCGCATGAGCTGGACACTAATTTCTTTACGCTTACGTAGCGCAAGGCAAAATAGTCGCAACAGTACAAG 2040
      F G T A T Y A L K E P V M K S D A W A V V R V O S V W O L G N R O R P Y P W D V
TTGGGCACAGTACATACGCGTAAAGGAGCCGGTAATGAAGAGCGATGATGGCGAGTGGTACGCTCCAGTCCGCTGGCAGCTGGGTAACAGGCGAGAGCCATACCATCGGAGCTC 2160
      H W A N S T M Y W G T O P *
AACTGGCGAACAGCACCATGTACTGGGGGACGAGCCCTGAAAAAGGGGGGGGGCTAAAGCCCCCCCCCTTAAACCCCCCTTGGGGGGGATCCCGCCAGACCCCCCTTATATA 2280
      GCACTCAATAACGCGAAAAATAGATTTATCGCACTATC 2319

```

Şekil 1.1. CAV DNA'sının pozitif iplik nükleotit dizilimi (2319bp). 144 ve 260. baz arasında yerleşmiş 5 direkt tekrar, a:ATF-bağlayıcı element, b:CCAAT-F- bağlayıcı element, c:SPI- bağlayıcı element, d:TFIID- bağlayıcı element, e:poly(A) sinyali, (Noteborn ve ark. 1991).

Viral kapsidlerin rotasyonal simetrisinin 3 veya 5 kere katlanmasına bağılı olarak 2 tip virüs partikülü belirlenir. Tip I partikülleri merkez bir boşluğun etrafında, her birinin diğereine uzaklığı 7.5 nm olan 6 boşluğun bulunduğu düzenli bir yüzey ağı şeklinde görülür (Şekil 1.2.A). Tip II partikülleri 10 ayrı yüzey çıkıntısı olan ve dişli tekerlek yapısına benzeyen şekilde görülür (Şekil 1.2.B) (Gelderblom ve ark.1989, McNulty ve ark. 1990b, Schat 2003).



Şekil 1.2. CAV'ın elektron mikroskop görüntüsü (Schat 2003)

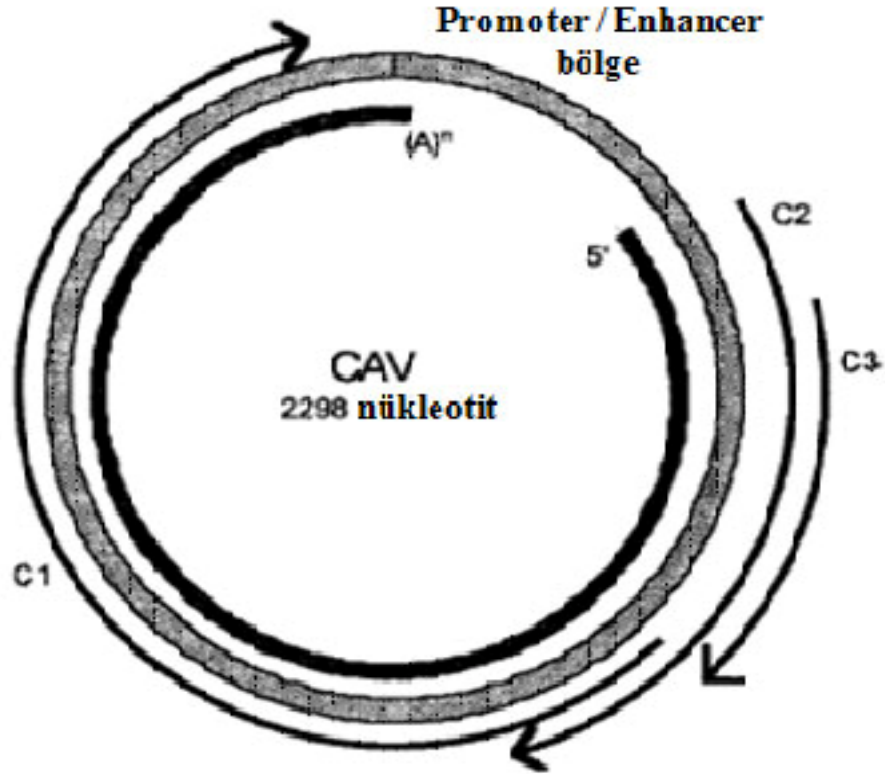
Tavuk anemi virüs ile enfekte bir hücrede tek iplikçikli ve çift iplikçikli DNA'nın her ikisi de mevcuttur, fakat virionlar yalnızca sirküler negatif DNA içerir. Genelde birçok suşun sekans analizinde çok benzerlik olmasına karşın ilerleyen zamanlarda suşlar arasında sekans farklılıkları belirlenmiştir (Noteborn ve ark. 1991). Meehan ve ark. (1992) Cux-1 izolatu üzerine yaptığı sekans çalışma sonuçlarını, Noteborn ve ark. (1991) belirlediği Cux-1 izolatu'nun sekans sonuçlarıyla karşılaştırdıklarında farklılıklar belirlemişlerdir. Yine Classens ve ark. (1991) Amerika'da izole ettikleri 26P4 CAV suşunu Cux-1 suşu ile karşılaştırdıklarında nükleotid diziliminde farklılıklar olduğunu bildirmişlerdir. Buna bağılı olarak virüsün tek serotipi olmasına karşın DNA nükleotid dizilimi farklı suşları bulunmaktadır (Çizelge 1.1.)

Çizelge 1.1. Coğrafik orijinlerine göre bazı CAV suşları (Vinodbhai 2005)

İzolat	Coğrafik Orijini	Gen Bank Erişim No
Isolate 704	Australia	U65414
CIA-1	USA	L14767
82-2	Japan	D31965
TR-20	Japan	AB027470
Cux-1 (M)	Germany	M81223
26P4	USA	D10068
Cux-1(N)	Germany	M55918
A2	Japan	AB031296
BD-3 CAV	Bangladesh	AF395114

Chandratilleke ve ark. (1991) CAV ile enfekte hücrelerde yaptıkları poliakrilamid-SDS jel elektroforez çalışması sonucunda üç önemli viral proteini (VP) VP1, VP2 ve VP3'ü tanımlamışlardır. Gen sekansı belirlenen izolatlardan CAA 82-2 hariç hepsi VP1, VP2 ve VP3 proteinleri için 3 parçalı üst üste binmiş açık okuma penceresi (Open Reading Frame-ORF) kod parçalarına, bir promotör bölgeye ve bir polyadenilasyon sinyaline sahiptir. ORF3, ORF2'nin içine yerleşmiştir, ORF2 ise kısmen ORF1 üzerine katlanır. ORF'ler tamamlayıcı iplikçik üzerinde bulunduğu sırada C1, C2, C3 olarak isimlendirilir (Şekil 1.3.). Üç ORF bölgesinin transkripsiyonu sonucunda uç uca eklenmiş polisistronik 2100 bazlık bir mRNA üretilir (Noteborn ve ark. 1992, Phenix ve ark. 1994, Todd 2000). Kato ve ark. (1995) Japonya'da izole edilen CAA82-2 izolatu pozitif DNA iplikçiğinde ORF1'in downstreaminde 1941-2289 nükleotitler arasına yerleşmiş 4. ORF (ORF4)'yi içerdiğini bildirmişlerdir. ORF 1 (pozisyon 853-2200 nt, 1347nt) VP1 (51.6kDa, 499AA) yapısal kapsid proteinini kodlar, ORF2 (pozisyon 380-1028, 648nt) kapsid oluşumu ile ilişkili olan VP2 (24kDa, 216AA) proteinini kodlar, ORF3 (pozisyon 486-849, 363nt) yapısal olmayan VP3 (13.6kDa, 121 AA) (apoptin) proteinini kodlar (Noteborn ve ark. 1991, Phenix ve ark. 1994, Miller ve ark. 2005). Noteborn ve ark. (1994) apoptin olarak da isimlendirilen VP3 proteinin tavuk timositlerinde ve lenfoblastoid hücre hatlarında güçlü bir apoptosis uyarıcısı olduğunu saptamışlardır. VP1 ve VP2 proteinleri birlikte antikor üretimi için esas epitoplardır. Yamaguchi ve ark. (2001) VP1 kapsid proteinin 394. aminoasidindeki glutaminin yerine histidin

bulduğunda virüsün patojenitesinin azaldığını ve bu virüslerin canlı virüs aşısı olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir. CIA hastalığının moleküler teşhisinde bu üç protein ve genleri kullanılır (Schat 2003).



Şekil 1.3. CAV genom organizasyonu (Todd 2000)

Pürifiye edilmiş virüs partikülünde sadece 50 kDA moleküler ağırlığında VP1 belirlenmiştir (Todd ve ark. 1990a). VP2 ve VP3 proteinlerinin pürifiye edilen virüs partikülünde belirlenemediği bildirilmiştir (Noteborn ve ark. 1994, Douglas ve ark. 1995). Douglas ve ark. (1995) CAV ile enfekte MSB1 hücrelerinde VP1,VP2 ve VP3 proteinlerinin kinetiğini araştırmışlar ve VP2 ile VP3 proteinlerini enfeksiyondan sonra yaklaşık 12 saat içinde belirlediklerini fakat VP1 proteinini enfeksiyondan sonraki 30 saate kadar belirlenemediğini rapor etmişlerdir.

1.1.3. CAV Replikasyonu

Horizontal veya vertikal yolla alınan CAV'lar adsorpsiyon ve penetrasyon ile hücreye girerler. Replikasyonun primer olarak kemik iliğindeki S fazında bulunan hematoblast hücrelerinde ve timusun korteksindeki S fazında bulunan öncü

T hücrelerinde meydana geldiği bildirilmiştir (Smyth ve ark. 1993, Adair 2000). Meehan ve ark. (1992) DNA replikasyonunun “*Rolling-circle*” modeliyle meydana gelebileceğini bildirmişlerdir. Enfekte hücrenin çekirdeğinde tek iplikli viral genom hücresel DNA polimeraz enzimi vasıtasıyla çift iplikli hale getirilir. Bazı araştırmacılar bu çift iplikli (double strand-ds) üreme formunun (replicative form-RF) latent episomal DNA'nın oluşmasında rol alabileceğini bildirmiştir (Cardona ve ark. 2000a,b, Brentano ve ark. 2004). DNA'ya bağımlı RNA polimeraz II ile ds DNA'dan çekirdekte 2.0-kb polisistronik mRNA oluşur. Enfeksiyondan 8 saat sonra mRNA hücrelerde belirlenmiş, 32 saat sonra miktarında önemli bir artış olduğu saptanmıştır (Noteborn ve Koch 1995). Polisistronik mRNA monosistronik mRNA'ya dönüştürülmeksizin ribozomlarda, virüs montajı için gerekli viral proteinler sentezlenir. Virüsün replikasyonu ve protein sentezi, VP3 proteininin hücre apoptosizine neden olmasıyla sonlanır (Phenix ve ark. 1994).

1.1.4. CAV'ın Çoğaltılması

Tavuk anemi virüs, hücre kültürlerinde, günlük civcivlerde veya embriyolu tavuk yumurtalarında çoğaltılabilir. Hücre kültürü üzerine yapılan araştırmalarda CAV üretimi için Marek's disease lymphoblastoid cell line (MDCC)-MSB1, MDCC-JP2 T hücre hatları ile lenfoid sarcoma chicken cell (LSCC)-1104B1 B hücre hatlarının uygun olduğu, tavuk ve tavuk embriyo dokularından hazırlanan monolayer hücre derivatlarında ise CAV'ın üremediği bildirilmiştir (Yuasa ve ark. 1979, Yuasa 1983). Yuasa (1983) MDCC-MSB1 hücre hattında 19 seri pasaj sonrasında patojenitenin azaldığını bildirmiştir. Calnek ve ark. (2000) CAV izolasyonu ve üretimi için MDCC-CU147 veya MSB1 hücre kültürlerinin kullanılabileceğini fakat CU147 hücre hattının MSB1 hücre hattına göre enfekte olan hücre sayısının daha fazla ve enfeksiyonun başlama süresinin kısa olması bakımından daha iyi olduğunu bildirmişlerdir. Klinik bulguların gözlenmesi, virüs izolasyonu veya üretimi için maternal antikorsuz günlük civcivler de deney hayvanı olarak kullanılabilir. Neonatal bursektomi yapılan civcivlerin ise CAV'a karşı daha duyarlı olduğu saptanmıştır (Yuasa ve ark. 1988).

Virüs üretimi için 5-6 günlük embriyolu tavuk yumurtaları kullanılabilir. Virüs yumurta sarısına inokule edildikten sonra yumurtadan çıkan civcivlerin normal olduğu fakat 7 gün sonra aneminin gözlemlendiği belirlenmiştir. İnokulasyonu takip eden 10-15. günlerde ölümlerin başladığı ve virüsün embriyonun tüm organlarından izole edilebileceği bildirilmiştir (McNulty 1991). Bazı suşların 16-20. günlerde önemli derecede embriyo ölümlerine neden olabileceği, özellikle CL-1 suşunun embriyonun küçük kalmasına, hemorajilere ve ödemlere neden olabildiği bunlara bağlı olarak da mortalite oranının % 49'a ulaşabileceği bildirilmiştir (Lamichhane ve ark. 1991).

1.1.5. CAV'ın Kimyasal ve Fiziksel İnaktivasyonu

Tavuk anemi virüs 56 °C veya 70 °C'lik sıcaklığa 1 saat, 80 °C'lik sıcaklığa ise 15 dk. süreyle dayanabilmektedir. Fakat CAV 100 °C sıcaklıkta 15 dk.'da tamamen inaktive olur (Yuasa ve ark. 1979, Goryo ve ark. 1985). CAV ile enfekte karaciğer ve hücre kültürlerine çeşitli kimyasal işlemlerin uygulanması sonucunda, özellikle ticari dezenfektanların (sabun, amfoterik sabun veya orthodichlorobenzene), formaldehid-potasyum permanganat fumigasyonu, fenol, hidroklorik asit (HCl), sodyum hidroksit (NaOH), üre ve sodyum azid'in CAV'a karşı etkili olmadığı belirlenmiştir. Enfekte karaciğer ve hücre kültüründe CAV'ın oda sıcaklığında % 5 formaldehid ile 24 saatte, % 1 glutaraldehit ile 10 dk.'da, 4 °C'de % 0.4 β -propiolactone ile 24 saatte, % 10 iyot ve hipoklorit ile 2 saatte, % 5 sodyumhipoklorit ile 10 dk.'da, 37 °C'de 0.1 N NaOH ile 2 saatte veya 15 °C'de 24 saatte inaktive olduğu belirlenmiştir (Yuasa 1992). CAV ile kontamine et ürünlerinin 95 °C'de 30 dk veya 100 °C'de 10 dk tutulması gerektiği bildirilmektedir (Urlings ve ark. 1993). CAV birçok ticari dezenfektana dirençli olması sebebiyle, kümeslerin temizlik ve dezenfeksiyon sonrasında bile risk taşımaya sebep olmaktadır. CAV'ı inaktive etmek amacıyla pH'sı 2 olan dezenfektanlar SPF endüstrisinde sıklıkla kullanılmaktadır (Schat 2003).

1.1.6. CIA Hastalığının Epidemiyolojisi

Tavuk anemi virüs için bilinen tek konakçı tavuklardır. Japon bildircinlerinde CAV'a karşı antikorlar belirlenirken, hindi, güvercin, karga veya ördeklerde belirlenememiştir. Günlük hindi palazlarının CAV ile deneysel enfeksiyonu sonrasında anemi ve antikor oluşumunun gözlenmediği belirlenmiştir (Farkas ve ark.1998). Tavuklar bütün yaşlarda enfeksiyona duyarlıdır, fakat ilk 3 hafta civcivlerin duyarlılığının en fazla olduğu ve hastalığın klinik formda gözleendiği dönemdir. İlerleyen yaşlarda bağışıklık sisteminin gelişmesiyle civcivlerde hastalığa duyarlılığın azaldığı bildirilmiştir (Yuasa ve ark. 1979, Goryo ve ark. 1985).

Tavuk anemi virüs hastalığının çıkışında çevresel faktörler, konak, virüs suşu ve dozu önemli etkenlerdir. CAV'ın, vertikal veya horizontal yolla yumurta çıkımından sonra 1-2 hafta içinde maternal antikor taşımayan civcivlere bulaşarak 3-4 haftalık piliçlerde klinik seyirli ve daha ileri yaşlarda subklinik seyirli hastalığa neden olabileceği bildirilmiştir (Yuasa ve ark. 1979, Yuasa ve ark. 1983, Hoop 1992). Hastalığın klinik formunun damızlıklarda görülmeyeceği buna bağlı olarak da yumurta üretimi ve fertilitenin etkilenmeyeceği bildirilmiştir (Pages ve ark. 1997, Hoop 1992). Fakat Toro ve ark. (1997) 10343 CAV izolatının 10 haftalık damızlıklarda deneysel enfeksiyon sonrasında klinik seyirli hastalığa neden olduğunu bildirmişlerdir.

Aşılı ve aşısız farklı yaşlardaki damızlıklarda yapılan araştırmalar damızlıklarda seropozitiflik oranının yüksek olduğunu göstermiştir. Yuasa ve ark. (1985) Japonya'da 40 damızlık sürüden elde ettikleri 381 serum örneğinin indirekt immünoflüoresans antikor (FA) testiyle, % 93.7'sinin CAV antikor pozitif, 40 damızlık sürünün ise % 97.5'inin seropozitif olduğunu saptamışlardır. McNulty ve ark. (1988) 8 ile 60 haftalık yaş aralığındaki aşısız 89 broyler damızlık sürünün IFA testi sonucunda, bu sürülerin % 96.6'sının seropozitif olduğunu bildirmişlerdir. Lucio ve ark. (1990) Amerika'da bulunan 6 ile 78 haftalık yaş aralığındaki 29 damızlık sürünün % 79.3'ünün CAV seropozitif olduğunu saptamışlardır. Goodwin ve ark. (1990) günlük ve 55 haftalık yaş aralığındaki 52 damızlık sürüden elde ettiği

861 serumda yaptıkları IFA testi sonucunda, serum örneklerinin % 62'sinin CAV antikor pozitif, damızlık sürülerin ise % 98'inin seropozitif olduğunu ve bu seropozitiflik oranının % 0 ile 100 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Dren ve ark. (1996) Macaristan'da bulunan 10 ile 62 haftalık yaş aralığındaki aşısız 13 broyler damızlık sürüden elde ettikleri 846 serum örneğinde CAV antikor varlığını araştırmak için yaptıkları IFA çalışmaları sonucunda, serum örneklerinin % 73.3'ünün CAV antikor pozitif, damızlık sürülerin tamamının seropozitif olduğunu ve bu seropozitiflik oranının % 40 ile 93 arasında değiştiğini saptamışlardır. Zhou ve ark. (1996) Çin'de bulunan aşısız 3 broyler damızlık sürüden elde ettikleri 39 serum örneğinin % 6.5'inin antikor pozitif, broyler damızlık sürülerinin tamamının seropozitif ve bu seropozitifliğin % 40-77.7 arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Brentano ve ark. (2000) Brezilya'da bulunan 6-70 haftalık yaş aralığındaki 127 broyler damızlık sürüsünden elde ettikleri 2335 serum örneğinde ELISA ile yaptıkları çalışma sonucunda, serum örneklerinin % 92'sini CAV antikor pozitif olduğunu bildirmişlerdir. Canal ve ark. (2004) 12 aşı ve 64 aşısız broyler damızlık sürüsünden 6 ve 55 haftalık yaş aralığında elde ettikleri 1710 serum örneğinde (sırasıyla 270, 1440) CAV antikor varlığını ELISA ile araştırmışlardır. Çalışma sonucunda aşısız damızlık sürülerin tamamı seropozitif belirlenirken, bu seropozitifliğin % 39-100 arasında değiştiği, alınan serum örneklerinin % 89'unun CAV antikor pozitif olduğunu saptamışlardır. Aşılı sürülerden elde edilen 270 serum örneğinin tamamının (% 100) pozitif olduğunu saptamışlardır.

Horizontal enfeksiyon genellikle maternal antikorsuz civcivler arasında direkt ve indirekt temasla (kontamine feçes, çıkım makineleri ve ağız yoluyla çevredeki CAV etkenlerinin alınması) oluşmaktadır (Vielitz ve Langraf 1988). Hoop (1992) deneysel olarak enfekte ettiği günlük, 10 haftalık ve 35 haftalık SPF civciv ve tavuklarda CAV epidemiyolojisi üzerine çalışmalar yapmıştır. Çalışmaları sonucunda, enfekte olan hayvanların virüsü enfeksiyondan sonraki 3-5 hafta boyunca dışkı ile saçtıklarını, 35 haftalık damızlıkların enfeksiyonundan sonraki ilk 5 haftada elde edilen embriyo ve civcivlerinde virüse rastlanıldığını saptamıştır. Seropozitif

hayvanları tekrar enfekte ettiğinde ise virüsün sadece 4 gün dışkıyla saçıldığını, embriyolu yumurtada ve civcivlerde CAV varlığının belirlenmediğini bildirmiştir. Araştırmacı enfekte ettiği hayvanların serumlarında yaptığı immünoflüoresans antikor (FA) ve serum nötralizasyon (SN) çalışmaları sonucunda, CAV antikor titresinin enfeksiyondan 2 hafta sonra geliştiğini ve 5. haftaya kadar pik yaptığını sonra antikor titresinin yavaş bir şekilde azalmaya başladığını, ilerleyen yaşlarda etkenle tekrar karşılaşılması durumunda ise antikor titresinin arttığını belirlemiştir.

Virüsün intratrakeal inokülasyonundan sonra klinik bulguların gözlenmesi, sahada enfeksiyonun respiratorik yol aracılığıyla bulaşabileceğini göstermektedir. Ayrıca damızlıkların virüslü spermle enfekte olabileceği de bildirilmiştir (Hoop 1993). Bir diğer bulaşma şekli de aşı üretiminde kullanılan SPF sürülerin enfekte olmasıyla, bunlardan elde edilen kontamine aşılar (Cardona ve ark. 2000b). CAV sürü içinde hızlı bir şekilde yayılır. Sahada doğal yollarla CAV'a maruz kalan sürülerde genel olarak 2-4 hafta içerisinde birçok kanatlının seropozitif olabileceği, bu sebeple damızlıkların aşılama yaşına kadar seronegatif olmasının önemli olduğu ve mutlaka aşılama öncesi CAV antikor varlığının araştırılması gerektiği bildirilmiştir (Schat 2003).

Vertikal bulaşma özellikle yumurtlama zamanında seronegatif damızlıkların enfekte olmasıyla gerçekleşir. Yumurtacı tavukların deneysel enfeksiyonundan 8-14 gün sonra virüsün yumurtaya geçtiği bildirilmiştir (Hoop 1992). Vielitz ve Landgraf (1988) vertikal bulaşmanın CAV enfeksiyonundan sonra 3-9 hafta boyunca devam ettiğini bildirmişlerdir. Vertikal bulaşma süresinin enfeksiyonun yayılım hızına ve CAV'a karşı immünitinin gelişmesine bağlı olarak değişebileceği araştırmacılar tarafından belirlenmiştir.

Cardona ve ark. (2000a) 7 SPF sürüde seropozitifliğin seksüel olgunluğun gelişmesiyle aynı zamana denk geldiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar bu durumu virüsün cinsel olgunluğa kadar üreme organlarında latent halde bulunması ve seksüel olgunluk sonucu oluşan hormonal değişikliğe bağlı olarak virüsün aktif hale geçip konak antikor üretimine neden olması ile açıklamışlardır. Miller ve ark. (2005) CAV

transkripsiyon regülasyonun, östrojen ve baskılayıcı proteinler gibi aktivatörler arası dengeye bağlı olduğunu ortaya koymuşlardır. Böylece özellikle SPF kümeslerde latent enfeksiyon ve reaktivasyonun nasıl oluştuğu ile ilgili önemli bilgiler sağlanmıştır.

Cardona ve ark. (2000b) yapmış olduğu bir başka araştırmada ise CAV varlığını ve nested PCR ile CAV DNA'sını seropozitif hayvanların testis dışındaki üreme organlarında ve dalaklarında belirlediklerini bildirmişlerdir. Üreme organları CAV DNA pozitif damızlıkların, embriyolarından alınan dokularda, virüsün replikasyon belirtisi olmaksızın bulunduğu ve böylece vertikal yolla bulaşma siklusunun devam ettiği saptanmıştır. Brentano ve ark. (2004) aşılı ve aşısız broyler damızlıklarda yüksek antikor titresinde bile üreme organlarında ve dalaklarında CAV genomunun bulunduğunu ve embriyolara vertikal yolla geçtiğini bildirmişlerdir.

McNulty ve ark. (1990a) CIA hastalığı için duyarlı günlük civcivlerde Cux-1 izolatının $10^{5.75}$ doku kültürü enfektif doz₅₀ (tissue culture infective dose-TCID₅₀) dozunda kas içi enjeksiyonu sonucunda tüm hayvanlarda aneminin görüldüğü, $10^{3.3}$ TCID₅₀ dozunda ise çok az hayvanda aneminin görüldüğünü saptamışlardır. Virüsün giriş yolu deneysel enfeksiyonda önemli rol oynar çünkü immün sistemi gelişmiş tavuklarda, gelişmeyenlere göre temas yoluyla anemi ve diğer klinik belirtiler genellikle oluşmaz. Rosenberger ve Cloud (1989b) hematokrit değerinin düşüklüğünü göz önüne aldıklarında deneysel olarak hastalık oluşturulmasında en etkili yolun intraabdominal yol olduğunu bildirmişlerdir.

Çeşitli araştırmacılar hastalığın inkübasyon periyodunun virüs suşuna, bulaşma yoluna ve tavukların genetik hattına bağlı olarak 6-14 gün arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Deneysel enfeksiyondan sonra genellikle klinik belirtilerin 8-14. günlerde, mortalitenin ise 12-14. günlerde görülmeye başladığı belirlenmiştir. Saha koşullarında vertikal yolla enfekte olan civcivlerde klinik bulgular ve mortalite 10-12. günlerde ortaya çıkarken, 17-24. günlerde pik yapabileceği rapor edilmiştir (Yuasa ve ark. 1979, Taniguchi ve ark. 1983, Goryo ve ark. 1987, Chettle ve ark. 1989, Goryo ve ark. 1989). Yoğun bir şekilde enfekte olan sürülerde, seronegatif

civcivlerin enfekte olması sebebiyle veya sekonder enfeksiyonlara bağı olarak 30-34. günlerde tekrar mortalite görülebileceğı bildirilmiştir (Noteborn 1991).

Cardona ve ark. (2000a) CIA hastalığına karşı genetik direnç üzerine yaptıkları çalışmalarında S13 genetik hattındaki tavukların enfeksiyon ve adjuvanlı ticari aşı ile aşılardan sonra serokonversiyon oranlarını diğere genetik hattaki tavuklara (N2a ve P2a) göre zayıf bulmuşlardır. Genetik hatlar arasında serokonversiyonda önemli farklılıklar olduğu bildirilse de aynı genetik hattın farklı jenerasyonları arasında bile % 4-95 oranında farklılık olabileceğı bildirilmiştir (Schat 2003).

Klinik seyirli CIA hastalığına karşı yaş direnci virüsün virülensi, dozu, bulaşma yolu, tavuğun immün sisteminin virüse karşı antikor oluşturmasıyla yakından ilişkilidir (Goryo ve ark. 1985, Rosenberger ve Cloud 1989b, Toro ve ark. 1997). Jeurissen ve ark. (1992b) yaş direncinin yumurta çıkım öncesi ve sonrasında timus öncü hücrelerinin duyarlı olup olmamasına bağı olduğunu belirtmişlerdir. Bununla birlikte embriyonal dönemde bursektomi yapılan civcivlerin tamamen enfeksiyona duyarlı kaldığı, timus atrofisi ve aneminin geliştiğı saptanmıştır (Hu ve ark. 1993a).

Horizontal bulaşmaya bağı olarak şekillenen hafif şiddetli bir hastalık durumunda kümeslerde çok az artan bir mortalite ve geçici bir performans düşüşü gözlenir. Böyle bir durumda hastalığın mortalite ve morbidite oranının % 10-20 arasında olduğu bildirilmiştir (Schat 2003).

Broyler damızlık ve ticari broyler sürülerinde yapılan araştırmalarda subklinik seyirli enfeksiyonun önemli bir performans düşüşüne ve mortalite artışına neden olmadığı bildirilmiştir (McIlroy ve ark. 1992, Goodwin ve ark. 1993, Jorgensen ve ark. 1995, Hagood ve ark. 2000). Bununla birlikte subklinik seyirli enfeksiyonlar diğere hastalıkların oluşmasına veya hastalığın daha şiddetli seyretmesine neden olabilir. Eğer civcivler CAV ile birlikte ikinci bir hastalık virüsü [adenovirüs, reovirüs, Marek hastalık virüsü (MDV), reticuloendotheliosis virüsü (REV) veya bursal hastalık virüsü (BDV)] ile enfekte edilirse patojenitenin artacağı, mortalite ve

morbidite oranının % 60' lara çıkabileceği bildirilmiştir (Yuasa ve ark. 1980b, Rosenberger ve Cloud 1989b, Cloud ve ark. 1992, Hagood ve ark. 2000).

Yuasa ve Imai (1986), 11 CAV izolatının patojenitesini ve antijenitesini karşılaştırdıklarında günlük civcivlerin deneysel enfeksiyonu sonrasında mortalite oranının % 20-90 arasında olduğunu, 7 günlük civcivlerin enfekte edilmesinden sonra ölümlerin olmadığını fakat anemi insidensinin % 0 - 87.5 arasında olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar 11 izolatın serolojik olarak antijenitesinde farklılık belirlemediklerini rapor etmişlerdir. McNulty (1991) mortalite ve morbidite üzerine vertikal bulaşmanın etkili olduğunu ve hastalığın klinik formunda bu oranın % 20 ile % 60 arasında değişebileceğini bildirmişlerdir.

Goryo ve ark. (1987) CAV ile enfekte 12-15 günlük civcivlerde mortalite oranının dişilerde yaklaşık % 2.4, erkeklerde ise % 20.9 olduğunu bildirmişlerdir. Chettle ve ark. (1989) IFA ile seropozitif buldukları tek bir damızlığın 10-14 günlük 3 ticari broyler sürüsünde CIA salgını sırasında mortalite oranını sırasıyla % 8.83, % 16.3 ve % 34.7 olduğunu rapor etmişlerdir.

1.1.7. Türkiye'de CIA Hastalığı

Türkiye'de CIA hastalığı ile ilgili ilk çalışmalar 1980'li yılların sonlarında başlamıştır. Çöven 1989 yılında, SPF ünitesinde bulunan hayvanlarda immünoflüoresans antikor (FA) tekniği ile CAV varlığını saptamak amacıyla yaptığı araştırma sonucunda pozitif olguya rastlamadığını bildirmiştir.

Ergün ve ark. (1998) 4 broyler damızlık sürüsünden aldıkları serum örneklerinde, % 27.7 ile % 100 arasında değişik oranlarda CAV antikorları saptadıklarını, aynı işletmelerin ticari broyler kümeslerinden aldıkları serum örneklerinin CAV'a karşı antikor taşımadığını bildirmişlerdir.

Yılmaz ve ark. (1999) Marmara bölgesindeki 5 ticari broyler ünitesinde sağlıklı 48 civcivde CAV DNA varlığını araştırmak amacıyla yaptıkları polimerase

chain reaction (PCR) çalışmaları sonucunda 25 günlük 2 civcivin timusunda CAV DNA'sının varlığını ortaya koymuşlardır.

Yılmaz ve ark. (2001) Marmara bölgesindeki 8 ticari broyler sürüsünde, 11-28 günlük toplam 94 adet sağlıklı civcivin 8'inin timusunda PCR ile virüs DNA'sını saptadıklarını bildirmişlerdir.

Kuyucuoğlu ve ark. (2003), Afyon yöresindeki değişik yaş gruplarındaki 21 yumurtacı tavuk sürüsünden aldıkları 460 serum örneğini enzyme-linked immuno sorbent assay (ELISA) ile incelediklerinde, serumların % 77.3'ünü seropozitif bulmuşlardır. Araştırmacılar yumurtacı tavuk sürülerinin 18'inde CAV antikorlarını saptarken, 3 sürüde antikor saptamadıklarını bildirmişlerdir. Çalışma sonucunda Afyon yöresindeki yumurtacı tavukların CAV antikor seroprevalansının yüksek olduğunu ve bu durumun yumurtacı ve broyler damızlıklar için enfeksiyon kaynağı olması bakımından önemli olabileceğini rapor etmişlerdir.

Hadimli ve ark. (2008) Konya yöresinde bulunan 16 yumurtacı tavuk (4-8 haftalık), 10 ticari broyler (11-39 günlük), 4 yumurtacı damızlık (20-42 haftalık) ve 8 broyler damızlık (30-63 haftalık) sürüsünden kan ve doku örnekleri toplayarak CAV ve antikor varlığını araştırmışlardır. Yaptıkları çalışmada, yumurtacı tavuklardan topladıkları 392 serum örneğinin % 70.91'ini, broyler kümeslerinden topladıkları 240 serum örneğinin % 20.83'ünü, broyler damızlık kümeslerinden topladıkları 200 örneğin % 95.5'ini, damızlık yumurtacı kümeslerinden topladıkları 90 örneğin % 100'ünü antikor pozitif olarak belirlemişlerdir. PCR sonucuna göre 10 yumurtacı ve 5 ticari broyler kümesini CAV bakımından pozitif bulmuşlardır. Sonuç olarak araştırmacılar, CAV prevalansının Türkiye'deki tavukçuluk işletmelerinde yaygın olduğu kanaatine varmışlardır.

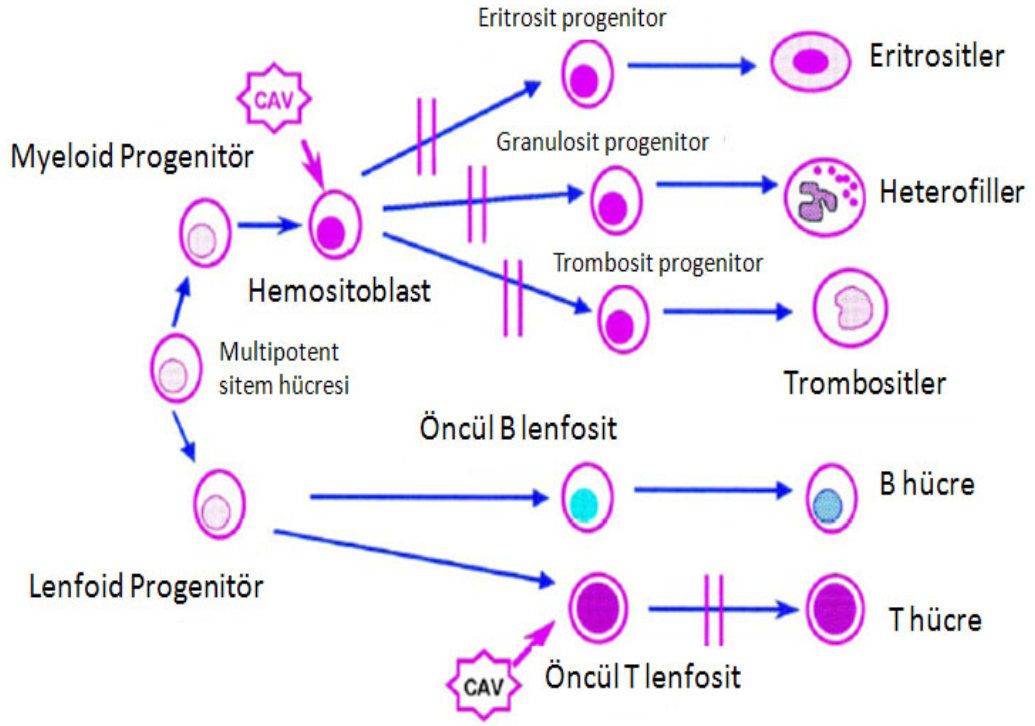
Türkyılmaz ve Mısırlıoğlu (2004) İzmir ve Bandırma'da yetiştirilen broyler damızlık ve ticari broyler sürüleri ile yumurtacı tavuklardan elde ettikleri serum örneklerinde ELISA kullanarak yaptıkları serolojik çalışma sonucunda 485 ticari broyler serum örneğinin % 62'sini, 57 broyler damızlık serum örneğinin % 71'ini,

123 ticari yumurtacı tavuk serumu örneğinin % 76'sını antikor pozitif bulduklarını bildirmişlerdir.

1.1.8. CIA Hastalığında Patogenez

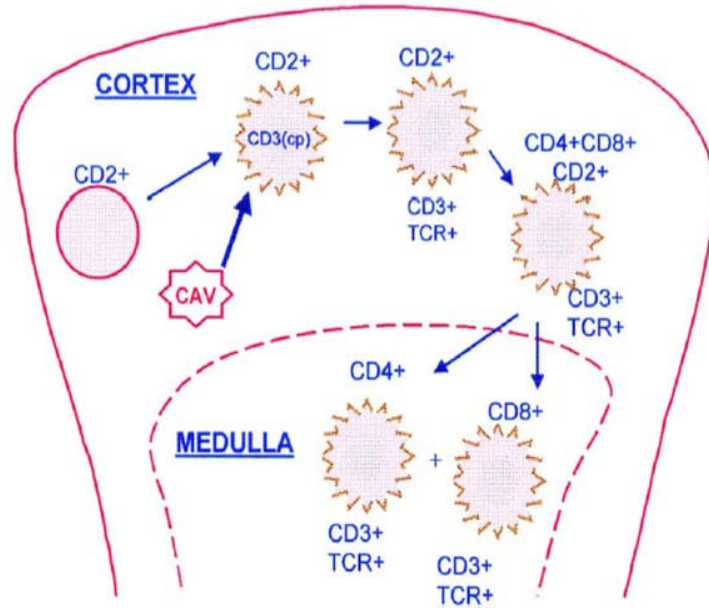
Tavuk anemi virüs, lenfoid dokulara özellikle timus korteksine ilgi gösterir. Enfeksiyondan 4-6 gün sonra kortikal timik lenfoblastlarında, kemik iliği retiküler hücrelerinde, hemositoblastlarda, dalaktaki olgun T hücrelerinde ve birçok organda tesbit edilmiştir (Adair ve ark. 1993, Smyth ve ark. 1993, Gürel ve Kuşcu 2007). Enfeksiyondan sonraki 26. günde ise viral antijenlerin belirlenemediği saptanmıştır (Smyth ve ark. 1993).

Enfeksiyondan 6-8 gün sonra yapısal olmayan VP3 proteini, timus korteksindeki lenfoblastların ve kemik iliğindeki hemositoblastların kromatini ile birleşir. Bu birleşme DNA'nın superkoil yapısını bozarak hücre dejenerasyonuna veya apoptosis için aktivasyon sinyali oluşturarak hücrelerin apoptozisine neden olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir. Genişlemiş proeritroblastlar, dejenere olmuş hematopoetik hücreler ve makrofajlar, kemik iliğinde gözlenebilir (Şekil 1.4.). Hematoblastların enfeksiyonu sonucu eritrosit, lökosit ve trombosit sayıları azalır ve pansitopeni gözlenir. Bu dönemde enfekte hayvanlarda hematokrit değeri normal değerin (% 29-35) altında, % 6-27 arasında olduğu belirlenir (Taniguchi ve ark. 1983, Goryo ve ark.1989, Jeurissen ve ark. 1992a, Smyth ve ark. 1993, Adair 2000).



Şekil 1.4. CAV'ın T hücre gelişimi ve hematopoezis üzerine etkileri (Adair 2000).

Adair ve ark. (1993) CAV'ın ilk olarak timus korteksindeki öncül T hücrelerine bağlanmasını, bu hücrelerin yüzeyinde bulunan CD3 yüzey proteini ile ilişkilendirmişlerdir. Araştırmacılar aynı zamanda CD8⁺ hücrelerin CD4⁺ hücrelerden daha fazla etkilendiğini saptamışlardır (Şekil 1.5.). Hu ve ark. (1993b) günlük civcivleri CIA-1 izolatıyla deneysel olarak enfekte ettikten sonra flow sitometri kullanarak timus CD4⁺ ve CD8⁺ hücrelerinin kontrol grubuna göre % 34 ve % 48 oranında azaldığını, 14 ve 21 günlük civcivleri enfekte ettiklerinde ise değişiklik olmadığını bildirmişlerdir.



Şekil 1.5. CAV'ın farklı yüzey markırlı timik öncü T hücreleri üzerine etkisi (Adair 2000)

Tavuk anemi virüs enfeksiyonu immün cevabın bozulmasına, hematopoetik ve lenfopoetik dokularda yıkımlanmaya, generalize lenfoid atrofi ve sitokin dengesizliğine neden olabilir. Deneysel olarak enfekte edilen 1-7 günlük civcivlerde splenositlerin mitojenlere cevabının, enfeksiyondan sonraki 7-15. günlerde baskılandığı bildirilmiştir (Adair ve ark. 1991).

Günlük civciv ve 3 haftalık piliçlerin enfeksiyonundan sonra Fc reseptör ekspresyonu, interlökin-1 (IL-1) üretimi, fagositozis ve bakterisidal aktivite gibi makrofaj fonksiyonlarında geçici azalmaların olabileceği bildirilmiştir. İnokülasyondan sonra 14-21 günler arasında T hücre büyüme faktör üretiminin (IL-2) ve 15-29. günler arasında interferon üretiminin azalabileceği bildirilmiştir. CAV ile enfekte 3 haftalıktan büyük tavuklarda REV ve MDV için antijen spesifik T hücrelerin gelişmesinin önemli derecede azaldığı ve buna bağlı olarak CAV'ın aşı bağışıklığını etkileyebileceği gösterilmiştir (Adair ve ark 1991, McConnell ve ark. 1993a,b, Schat 2003).

Boer ve ark. (1994) CAV ile enfekte ettikleri günlük civcivleri, 1 ve 10 günlükken attenuue Newcastle (ND) hastalığı LaSota aşısı suşu ile aşılamışlardır. Bu

hayvanları ND ile deneysel enfekte ettiklerinde çeşitli solunum bozukluklarının oluştuğunu saptamışlardır.

Timusta lenfositlerin tekrar çoğalması, genişlemiş proeritroblastlar, promiyelositler ve hematopoetik aktivite, enfeksiyondan 16 gün sonra antikor oluşumuyla birlikte başlar. İyileşen civcivlerde doku bozukluklarının ve kan parametrelerinin 32 ile 40 gün sonra normale döndüğü bildirilmiştir (Taniguchi ve ark.1983, Goryo ve ark. 1989).

Tavuk anemi virüse karşı koruyucu bağışıklık antikor yanıtı ile sağlanır. Duyarlı günlük civcivlere virüsün inokülasyonundan sonra nötralizan antikorların 3. haftaya kadar belirlenemeyeceği veya titrelerinin çok düşük olduğu bildirilmiştir (1:80). Titrede 4. haftaya kadar çok az bir artış (1:320) gözlenir. CAV kas içi yolla 2-6 haftalık tavuklara verildikten sonra, verilen virüs dozuna bağlı olarak, tavuklarda 4-28 gün içinde nötralizan antikorların belirlenebildiği ve inokülasyondan sonra 12-21 günlerde maksimum titrenin (1:1280-1:5120) oluştuğu çeşitli araştırmacılar tarafından saptanmıştır (Yuasa ve ark. 1983, Yuasa ve ark. 1985, Dren ve ark. 2000).

Eğer tavuklar deneysel olarak oral yolla enfekte edilirse kas içi yolla enfeksiyona göre timusta CAV DNA'sı ve humoral immün yanıtın yaklaşık 1 hafta daha geç oluştuğu bildirilmiştir (Van Santen ve ark. 2004). Yuasa ve ark. (1983) antikor üretiminin artışıyla tavuk dokularında virüs konsantrasyonunun azaldığını saptamışlardır.

Damızlık yaşı ile CAV antikorları arasındaki ilişkiyi araştırmak için yapılan bazı çalışmalarda farklı sonuçlar belirlenmiştir. Hoop (1992) deneysel olarak günlük, 10 haftalık ve 35 haftalıkken enfekte ettiği SPF civciv ve damızlık tavukların serumlarında yaptığı IFA ve SN çalışmaları sonucunda, CAV antikor titresinin enfeksiyondan 2 hafta sonra geliştiğini ve 5. haftaya kadar pik yaptığını daha sonra antikor titresinin yavaş bir şekilde azalmaya başladığını (1 log₁₀/8-10 hafta), ilerleyen yaşlarda etkenle tekrar karşılaşılması durumunda antikor titresinin arttığını bildirmiştir. Araştırmacı ayrıca enfeksiyon sonrası oluşan seropozitifliğin çalışmanın

sonlandığı 6. ayda hala devam ettiğini rapor etmiştir. Imai ve ark. (1993) 10 ve 63 haftalık yaş aralığındaki 4 damızlık sürüden çeşitli zamanlarda elde edilen serum örneklerinde IFA ve SN ile CAV antikor varlığını araştırdıkları çalışma sonucunda, 1. sürüde 63 haftalık ortalama antikor titresinin 37 ve 52 haftaya göre, 4. sürüde 48 haftalık ortalama antikor titresinin 24 ve 35. haftaya göre daha düşük belirlerken, 2. sürüde 31 haftalık ortalama antikor titresinin 25 haftalığa göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Pages ve ark. (1997) 20 haftalık damızlıkları inaktif aşı ile aşıladıktan sonra 10 hafta arayla 4 kez elde ettikleri serum örneklerinde ELISA ile belirledikleri CAV antikor titre sonuçlarını karşılaştırdıklarında, yaştan ilerlemesiyle antikor titresinin azaldığını, fakat 60 haftalık damızlıklarda antikor titresinin hala koruyucu düzeyde bulunduğunu saptamışlardır. Canal ve ark. (2004) 6 ile 55 haftalık yaş aralığında bulunan CIA hastalığına karşı 64 aşısız damızlık sürüde damızlık yaşı ile antikor titrelerini karşılaştırdıklarında önemli bir fark belirlemediklerini, damızlık yaşı ile seropozitiflik oranını karşılaştırdıklarında, 6-21 haftalık yaş aralığında % 88.93, 22-45 haftalık yaş aralığında % 91.95 ve 46-55. haftalık yaş aralığında % 83.58 olduğunu bildirmişlerdir. Owoade ve ark. (2004), Güneybatı Nijerya'da broyler damızlık ve ticari broyler sürüleri ile yumurtacı tavuklarda CIA hastalığının seroprevalansının belirlenmesi amacıyla yaptıkları çalışma sonucunda; gençlere göre yaşlı hayvanlarda seroprevalansın daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Mahzounieh ve ark. (2005), İran'da ticari broyler kümeslerinde CAV seroprevalansını ortaya koymak amacıyla 46 ticari broyler kümesinden 2 günlükten 9 haftalığa kadar çeşitli yaşlardaki hayvanlardan toplam 450 kan örneğini ELISA testiyle incelemişlerdir. Araştırmacılar çalışma sonucunda tüm kümesleri seropozitif belirlerken, elde edilen serum örneklerinde % 87.7 pozitiflik saptadıklarını bildirmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar seroprevalansın yaşlı kümeslerde daha yüksek olduğunu fakat antikor titresini ile yaştan ilişkili olmadığını rapor etmişlerdir. Otaki ve ark. (1991), Imai ve ark. (1993), Cardona ve ark. (2000a) CAV enfekte olan tavuklarda nötralizan antikorların uzun bir süre kalıcı olduğunu rapor ederken, Schat (2003) aşılama sonrası oluşacak bağışıklığın yumurtlama periyodu boyunca devam edeceğini bildirmiştir.

1.1.9. CIA Hastalığının Klinik ve Patolojik Bulguları

Tavuk enfeksiyöz anemi hastalığının spesifik klinik belirtisi enfeksiyondan sonraki 14-16. günlerde ortaya çıkan anemidir. Enfeksiyondan şiddetli etkilenmiş civcivlerin kanlarında su miktarının azaldığı, pıhtılaşma süresinin uzadığı, kan plazmasının normalden daha sarı görünümde olduğu bildirilmiştir. Kanamalar ve kanın pıhtılaşma süresinin uzaması trombositopeninin bir sonucudur. Sekonder bir enfeksiyonla, trombositopeni daha da şiddetlenebilir. Enfeksiyondan 8-10 gün sonra hematokrit değerinin % 27'nin altına düştüğü, 14-20. günlerde % 10-20 arasında olduğu, hatta ölmek üzere olan hayvanlarda % 6 ya kadar düşebileceği bildirilmiştir. İyileşen hayvanlarda 16-21 gün sonra hematokrit değerinin arttığı ve enfeksiyondan 28-32 gün sonra normale (% 29-35) döndüğü rapor edilmiştir (Yuasa ve ark. 1979, Rosenberger ve Cloud 1989b, Noteborn ve ark. 1991, Pope 1991). Yılmaz ve ark. (2001) PCR ile CAV pozitif belirledikleri 8 hayvanın 3'ünde hematokrit değeri % 29'un altında, 5'inde % 29'un üzerinde belirlerken, enfekte olmayan 16 hayvanda % 29'un altında, 36'sında % 29'un üzerinde belirlemişlerdir.

Enfekte hayvanlar durgun ve solgun görünür. Canlı ağırlık artışı deneysel enfeksiyondan sonraki 10-20. günler arasında baskılanmıştır. Hasta hayvanlarda enfeksiyondan sonraki 12-28. günler aralığında ölümler gözlenir. Enfeksiyondan 20-28 gün sonra anemi ve depresyondan kurtulan hayvanlar hastalığı atlattıkları. Yaşın ilerlemesine karşın hastalıktan kurtulamamış hayvanlarda mortalite de artış devam ediyorsa sekonder enfeksiyonlar söz konusudur. Sekonder enfeksiyonların çeşitli klinik belirtilere neden olarak primer CAV enfeksiyonunun teşhisini güçleştireceği bildirilmiştir (Yuasa ve ark. 1979, Taniguchi ve ark. 1983, Goryo ve ark. 1989, Rosenberger ve Cloud 1989a).

Deri içi, deri altı ve kas içi hemorajilerin, ayak ve bacaklardaki deri altı hemorajiler nedeniyle oluşan ülserlerin, CIA hastalığı ile ilişkili hemorajik-aplastik anemi sendromunda görüldüğü, kanatlardaki deri içi ve deri altı hemorajilerin CIA hastalığı ile ilişkili gangrenöz dermatitis de görülen klinik bulgular olduğu bildirilmiştir (Yuasa ve ark. 1987, Engstrom ve ark. 1988, Pope 1991). Daha belirgin

kanamalar ve diğerk organlardaki lezyonların (karaciğerin genişlemesi ve renk değışiklikleri) sekonder enfeksiyonlarla ilişkili olarak meydana geldiğı saptanmıştır (Taniguchi 1983, Rosenberger ve Cloud 1989a).

Tavuk infeksiyöz anemi hastalığı ile ilgili lezyonlar virüsün giriş yoluna, maruz kalma yaşına, viral doza ve konakçının immün sistemine bağılı olarak değışebilir. Duyarlı yaştaki civcivlerde gelişen en önemli lezyon timus loblarının tamamen yok olmasına varan derecelerde timus atrofidir. Timus kalıntıları koyu kırmızımsı renktedir. Femurda görülen kemik iliğı atrofidir karakteristik lezyondur (Taniguchi ve ark. 1983, Goryo ve ark.1985, Jeurissen ve ark. 1992b). Etkilenmiş kemik iliğı yağlı ve sarımtırak veya pembemsi görülür. Bazı örneklerde timus koyu kırmızı renkte olsa da lezyonlar histopatolojik araştırmayla belirlenebilir. Hasta hayvanlarda, bursa Fabricius'un dış membranının yarı saydam ve buruşuk bir görünümde olduğı saptanmıştır (Schat 2003, Gürel ve Kuşçu 2008).

Bougiouklis ve ark. (2007) CAV enfeksiyonu ile ilgili klinik belirtiler gösteren 12 günlük ticari broyler civcivlerin nekropsisi bulgularında solgun karaciğer, bursa Fabricius ve timusta atrofi, kemik iliğinde renk değışimi, iskelet kaslarında ve deri altında hemorajileri gözlemlemişlerdir. Nekropside en çok gangrenöz dermatitis geliştiğini bildirmişlerdir

Gürel ve Kuşçu (2008) Cux-1 izolatu ile enfekte ettikleri günlük SPF civcivlerden, belirli günlerde elde ettikleri bursa Fabricius, dalak, sekal tonsiller, karaciğer, böbrek, pankreas, duodenum, ince ve kalın bağırsak, proventrikulus, akciğer, kalp, trakhea, özefagus, beyin ve beyincik doku örneklerinde histopatolojik lezyonları ve StreptAvidin-biyotin peroksidaz boyama yöntemi ile antijen yoğunluklarını araştırmışlardır. Bu organlarda herhangi bir histopatolojik lezyon saptanmamasına rağmen, virüs inokülasyonundan sonraki 7. günden itibaren bursa Fabricius, dalak, sekal tonsiller, akciğer ve proventrikülusta antijen spesifik boyanmaları belirlediklerini bildirmişlerdir.

1.1.10. CIA Hastalığının Laboratuvar Teşhisi

Enfekte hayvanlarda patolojik bulgular, hematolojik değişiklikler, klinik görünüm ve kümes geçmişi dikkate alınarak CIA hastalığının kesin olmayan teşhisi yapılabilir. Kesin teşhis için virüs izolasyonu ve identifikasyonuna ihtiyaç vardır. Hastalığın laboratuvar teşhisi *in vivo*, moleküler ve serolojik testlerle yapılmaktadır (Rosenberger ve Cloud 1998).

Enfeksiyondan 7 gün sonra birçok dokuda ve rektal içerikte yüksek virüs titresi belirlenebilir ve virüs izole edilebilir. Virüs titresi antikor gelişimine bağlı olarak zamanla azalır, fakat enfeksiyondan sonraki 49. güne kadar beyin ve rektal içerikten izole edildiği bildirilmiştir (Yuasa ve ark. 1983).

Tavuk anemi virüsünün hücre kültüründe üreyip üremediği, hayvan deneyi veya PCR analizi ile doğrulanabilir. CAV'dan şüpheleniliyorsa ve virüs izole edilememişse günlük civcivlere kas içi veya periton içi virüs inokülasyonu, CAV'ın izolasyonu için kullanılabilir. Bu uygulamanın hücre kültürüne göre daha duyarlı olduğu ve bursektomi ile duyarlılığın daha da arttırılabileceği bildirilmiştir (Hu ve ark. 1993a, Schat 2003). İnokülasyondan sonra 14-21. günler arası hematokrit değer % 27'nin altına düşmüş ise bu durum CAV enfeksiyonunu gösterir. Anemik olmayan hayvanlarda hastalığın teşhisinde nekropsi bulguları, özellikle timus ve kemik iliğinde oluşan atrofi kullanılabilir. PCR veya immünohistokimya ile lezyonlarda CAV varlığının doğrulanması önemlidir (Rosenberger ve Cloud 1989a).

Tavuk sürülerinde CAV varlığının belirlenmesi amacıyla rutin olarak 3 serolojik test kullanılmaktadır. Bunlar ELISA, immünoflüoresans ve nötralizasyon testleridir. Otaki ve ark. (1991) bu üç testi karşılaştırmak için yaptıkları çalışma sonucunda üç testin de enfeksiyondan sonraki 2 ile 3. haftalarda tüm hayvanlarda seropozitifliği belirlediğini, ELISA testinin 6 hayvanda 15. haftaya kadar, 1 hayvanda 37 haftaya kadar seropozitifliği belirlediğini, VN testinin ise 37. haftaya kadar tavukların tamamında seropozitifliği belirlediğini bildirmişlerdir. Bu serolojik testlerden ELISA'nın, sürü taramalarında kullanılması, ekonomik olması ve kısa

sürede sonuçlanması gibi avantajları nedeniyle sıkça çalışılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda tavuk serumundaki CAV spesifik antikorların varlığını ve miktarını belirlemek için birçok ELISA tekniği geliştirilmiştir. Bu test, birçok ülkede damızlık sürülerin aşılama öncesi ve sonrası CAV antikor düzeyini saptamak, ayrıca civcivlerde maternal antikor varlığının belirlenmesi için kullanılmaktadır (Todd ve ark. 1990b, Schat 2003). Todd ve ark. 1999 yılında monoklonal antikor kullanarak dünyanın farklı bölgelerinden elde edilen saha izolatlarıyla reaksiyon veren bir ELISA testi geliştirdiklerini bildirmişlerdir.

Antijenler genellikle MSB1 hücrelerinde üreyen virüslerden hazırlanır. Rekombinant DNA teknolojisi ile bakteriyel sistemlerde VP3 veya baculovirüs sistemlerinde VP1, VP2 ve VP3 proteinlerinin üretildiği bildirilmiştir (Iwata ve ark. 1998).

Tavuk anemi virüsünün varlığının gösterilmesinde kullanılan moleküler çalışmaların (PCR, nested PCR, sekans analizleri, nükleik asit hibridizasyonu vb.) duyarlılığının ve özgüllüğünün fazla olduğu bildirilmiştir. CAV DNA'sı, hücre kültürlerinde, karaciğer ve lenfoid dokularda, formalinle tespit edilmiş karaciğer homojenatlarında veya formalinle tespit edilmiş parafine gömülü dokularda, kontamine aşılarda, serum ve kanda moleküler çalışmalarla belirlenmiştir. Rutin PCR çalışmalarında primerler için en iyi seçim yeri ORF bölgeleridir. Birçok ülkede yapılan araştırmalarda PCR ile farklı şuşların amplifiye bölgeleri gösterilse de, genelde CAV'ın Cuxhaven-1 izolatının ORF1 ve ORF3 gen sekansı primer olarak seçilmiştir. Fakat bu primerlerin tüm izolatların PCR ile teşhisinde yeterli olmayacağı bildirilmiştir (Schat 2003, Nogueira ve ark. 2005).

Nogueira ve ark. (2005) saha örneklerinde *in vivo* virüs izolasyonu yerine daha hızlı, duyarlı ve özgül olarak PCR ile CAV varlığının belirlenmesine yönelik bir çalışma yapmışlardır. VP3F/VP1R primerlerini kullanarak yaptıkları PCR çalışması sonucunda, VP1F/VP1R primeri kullanılarak yaptıkları PCR sonucuna göre 4 izolatın daha pozitif olduğunu saptamışlardır.

Kumar (2007) kemik iliği, dalak, karaciğer, timus ve bursa Fabricius olmak üzere 75 doku örneğinde CAV varlığını PCR ile araştırmıştır. VP2F/VP2R, VP1F/VP1R, O1F/PshA1R, O1F/O1R primer setlerini kullanarak yaptığı PCR sonucunda, sırasıyla 68, 33, 67 ve 59 örnekte pozitif sonuç bulunduğunu bildirmiştir.

In vivo deneyler (hücre kültürü, ETY) ve PCR ile CAV'nin gösterilmesi ile ilgili yapılan araştırmaların sonuçlarının % 100 uyuştuğu bildirilmiştir. Fakat hücre kültürü (MDCC-MSB1) çalışmalarının tüm CAV izolatları için uygun olmadığı, embriyolu tavuk yumurtasının (ETY) zaman alıcı ve sınırlı miktarda örnek üretilebildiğinden dolayı zor olduğu rapor edilmiştir (Rosenberger ve Cloud 1998, Schat 2003).

Viral antijenler, immünoflüoresans veya immünoperoksidaz boyama ile tavuk dokularında gösterilebilir. İmmünoflüoresans antikor testi ile direkt teşhis için genellikle enfeksiyondan 7-12 gün sonra timus dokuları tercih edilir. Eğer CAV ile enfekte MSB1 veya CU147 hücrelerinde antijen aranacaksa, inokülasyondan 36-42 saat sonra hücre lizisi olmadan test uygulanır (Schat 2003). İmmünoperoksidaz deneyinin formalinle fikse edilmiş, parafine gömülmüş örneklerle çalışıldığı bildirilmiştir (Hoop and Reece 1991, Smyth ve ark. 1993, Gürel ve Kuşçu 2008).

1.1.11. CIA Hastalığında Koruma ve Kontrol

Tavuk infeksiyöz anemi hastalığından koruma ve kontrol amacıyla işletmelerde hijyen ve yönetim prosedürleri dikkatli bir şekilde uygulanmalıdır. Bu amaçla özellikle hayvanlarda immünosupresyonun ve 3-4 haftalık yaştan önce CAV'a maruz kalmanın engellenmesi gerekir. Saha koşullarında CIA hastalığının eradikasyonu oldukça zordur. Çünkü CAV dezenfektanlara karşı oldukça dirençli, vertikal yolla bulaşabilen ve yumurtlama dönemine kadar latent kalıp yumurtlama ile birlikte tekrar aktif olabildiği bildirilen bir etkidir (Cardona ve ark. 2000b, Schat 2003).

Hastalığın patogenezi ve epidemiyolojisi hakkında bilgiler arttıkça virüsün identifikasyonu, koruma ve kontrolüyle ilgili çalışmalar artmıştır. Vielitz ve Landgraf (1988) CIA hastalığına karşı aşılama tavuk embriyolarında ürettikleri

canlı virüsleri kullanmışlardır. Bu aşuların yanı sıra baculovirüs kullanarak rekombinant VP1 ve VP2 proteinlerinin birlikte kullanıldığı subunit aşular geliştirildiği bildirilmiştir (Koch ve ark. 1995, Noteborn ve ark. 1998). Pages ve ark. (1997) SPF damızlıklarda inaktif aşı kullanarak yaptıkları aşılama sonrası bağışıklığın gözlemlendiğini saptamışlardır. Fakat canlı aşular daha yüksek antikor titresini oluşturduğundan ve maliyet açısından rekombinant aşulara göre daha ekonomik oldukları için sahada kullanımları daha yaygındır.

Aşılama stratejisi damızlık kümeslerin yeterli koruyucu antikor titresine sahip olması buna bağlı olarak virüsün vertikal yolla bulaşmasının önlenmesi ve civcivlere yeterli maternal antikor geçişini sağlanması esasına dayanır. Sommer ve Cardona (2003) CAV ve antikor dinamiğini araştırdıkları 2 ticari broyler süründe günlük yaştan 3 haftalık kadar virüs ve antikor varlığını belirlerken, 5 haftalık 20 hayvanın % 80'inde virüs ve % 35'inde antikor, 6 haftalık 20 hayvanın % 90'ında virüs ve antikor, 7 haftalık 20 hayvanın tümünde virüs ve antikor varlığını belirlemişlerdir. Araştırmacılar 3 haftalık kadar belirledikleri antikorların maternal antikor olduğunu, 5 haftalıktan sonra belirledikleri antikorların enfeksiyona bağlı olduğunu bildirmişlerdir. Günlük yaştan itibaren belirledikleri CAV'ın ise damızlık tavuklardan veya horozdan civcivlere geçmiş olabileceğini ya da horizontal yolla etkenin bulaştığını bildirmişlerdir. Bu sonuçlara göre Sommer ve Cardona (2003) maternal antikorların CIA hastalığı klinik belirtilerini önleyebileceğini fakat virüsün bulaşmasını ve immüno-supresyonu önleyemeyeceğini bildirmiştir. Fakat birçok araştırmacı maternal antikorların CAV'a karşı genç tavuklarda tam bir koruma sağlayacağını bildirmiştir. Yapılan çeşitli çalışmalarda bu korumanın ancak immüno-supresyona neden olan diğer viral enfeksiyonlar tarafından (IBDV, MDV, REV) yıkımlanabileceği rapor edilmiştir (Yuasa ve ark. 1980a,b, Rosenberger ve Cloud 1989b, Otaki ve ark.1992). Bazı araştırmacılar maternal antikorların, enfeksiyona karşı yaklaşık 3-4 haftaya kadar koruma sağladığını bildirmiştir (Yuasa 1980a, McNulty ve ark. 1988, Pages ve ark. 1997, Sommer ve Cardona 2003, Kapetanov ve ark. 2003). Fakat Roussan (2006), Kuzey Ürdün'deki ticari broyler kümeslerinde CAV enfeksiyonunun serolojik olarak prevalansını ortaya koymak

amacıyla yaptığı araştırmada, 1-4 günlük civcivlerin maternal antikorlarla ilişkili olarak en yüksek titre ortalamasına sahip olduğunu ve maternal antikor koruyuculuk düzeyinin düşmesine bağlı olarak enfeksiyonun 2 haftalıktan büyük civcivlerde görülebileceğini bildirmiştir. Otaki ve ark. (1992) enfeksiyon sonrası CAV antikorlarına sahip damızlıklardan elde edilen ticari broyler sürülerinde, maternal antikor seyri üzerine yaptıkları araştırma sonucunda maternal antikorların 2 haftalığa kadar koruma sağladığını fakat bazı antikor titresi yüksek damızlıklardan elde edilen civcivlerde maternal antikor varlığının 4 haftalığa kadar devam edebileceğini rapor etmişlerdir. Herdt ve ark. (2001) 28 haftalık % 100 seropozitif buldukları damızlıkların günlük civcivlerinde maternal antikor oranının % 98 olduğunu saptamışlardır. Davidson ve ark. (2004), İsrail’de CAV epidemiyolojisi üzerine yaptıkları araştırmada, antikor titresi yüksek damızlıkların civcivlerinde enfeksiyonun görülmediğini bildirmişlerdir. Bazı araştırmacılar da seropozitif damızlıklarda maternal antikorla birlikte damızlıkların genital organlarındaki hücre DNA’sına integre viral DNA’nın civcivlere aktarılabilenini bildirilmiştir (Cardona ve ark. 2000a,b, Brentano ve ark. 2004).

Mevcut ticari canlı aşılar, civciv ve piliçlerde hastalık riski oluşturabileceğinden, 6 haftadan önce bu aşıların uygulanamayacağı bildirilmiştir. Bununla birlikte aşı suşunun yumurta ile civcive geçmesini önlemek için yumurtlamadan en az 4 hafta önce aşılamanın yapılması gerektiği rapor edilmiştir (Voss 2000). Voss (2000) maternal antikorsuz günlük civcivleri aşıladıklarında klinik belirtilerin ve ölümlerin gözlendiğini, maternal antikorlu civcivlerde klinik bir belirti veya ölümün gözlenmediğini bildirmiştir. Ticari aşıların kullanıma girmesinden önce seronegatif geç damızlıklara, CAV pozitif doku homojenatı karıştırılmış suların verilmesiyle veya CAV enfekte kümeslerden bir miktar hayvanın ya da altlığın transferi ile immünizasyonun sağlandığı bildirilmiştir. Bu yöntemin aşının bulunmadığı veya ekonomik sebeplerden dolayı aşılama yapılamayan bazı ülkelerde hala uygulandığı rapor edilmiştir. Bununla birlikte bu uygulamanın, hijyeni sağlamak açısından ve maruz kalınan etken miktarının kontrol edilememesi nedeniyle oldukça riskli olduğu, ayrıca sürede herhangi bir immünosupresif bir

hastalığın bulunması durumunda, yetişkin tavuklarda da CAV'ın hastalık oluşturabileceği göz önünde bulundurulmalıdır (Vielitz ve Landgraf, 1988, Pages ve ark. 1997, Voss 2000, Schat 2003).

Voss (2000) 1 haftalık SPF civcivleri oral yolla aşıladıktan sonra aşılanmamış SPF civcivlerle izolator içerisinde bir arada tuttuklarında aşılanmamış SPF civcivlerin de CAV antikor pozitif olduğunu saptamıştır. Araştırmacı, aşı ve aşısız civcivlerin CAV'a maruz kalmalarından sonraki 4. haftada antikor titrelerini karşılaştırdığında aşı grubun antikor titresinin daha yüksek olduğunu fakat 6. haftada her iki grubun antikor titreleri arasında fark olmadığını bildirmiştir. Araştırmacı horizontal bulaşma ve aşılama sonrası elde edilen antikor titresini arasında uzun bir zaman diliminde bir fark olmadığını fakat aşılamanın daha kısa sürede yüksek koruyucu titreye ulaştığını ve aşılamanın sürüde CAV antikor oluşumunun uniform dağılım için önemli olduğunu bildirmiştir. Canal ve ark. (2004) ise 12 aşı ve 64 aşısız broyler damızlık sürüsünde CAV antikor varlığını ELISA ile araştırdıkları çalışma sonucunda aşı damızlıkların antikor titresinin aşısız damızlıklardan daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Mevcut ticari canlı aşılar, tavuklara 6-16 haftalık yaşlarda uygulanmaktadır. Aşılar enjektabl, kanat zarına batırma metodu veya içme suyuna karıştırılarak verilebilir. Aşılamadan sonra 2 ile 5 hafta içinde sürüde serokonversiyon sağlanır (Voss 2000). Malo ve Weingarten (1995) koruyucu antikor titresinin 8 (log₂)'den büyük olması gerektiğini bildirmiştir. Oluşan immünizasyon yumurtlama periyodunca devam eder ve virüsün vertikal yolla bulaşmasını engeller. Damızlık kümeslerin CAV antikor varlığı bakımında sürekli izlenmesi veya aşılama sonrası aşı etkinliğinin test edilmesiyle vertikal yolla hastalığın bulaşması engellenebilir. Sürülerde maternal antikorların yok olmasından sonra enfeksiyon meydana gelebilir. Bu durum özellikle damızlık sürülerde aşılama öncesi dikkate alınmalıdır (Voss 2000, Schat 2003).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1.Gereç

2.1.1. Örneklemeye Yapılan Sürüler ve Elde Edilen Numuneler

Araştırma için Türkiye’de Marmara bölgesinde tavuk infeksiyöz anemi (chicken infectious anemia-CIA) hastalığına karşı aşılama yapan ve İç Anadolu bölgesinde aşılama yapmayan iki farklı entegre tesise ait broyler damızlık sürüleri ve bu damızlıkların ticari broyler sürüleri Haziran 2008 ve Şubat 2009 tarihleri arasında örneklemeye yapmak amacıyla ziyaret edildi (Çizelge 2.1., Çizelge 2.2.). Çalışmanın materyalini, CIA hastalığına karşı 6’sı aşı, 6’sı aşısız farklı yaşlardaki broyler damızlık sürülerinden elde edilen 218 serum ve bu damızlıkların 32 ticari broyler sürüsünden (günlük, 1, 2, 3, 4 ve 5 haftalıkken) elde edilen toplam 2074 kan serumu ve 1916 doku numunesi oluşturdu.

2.1.1.1. Aşılı broyler damızlık sürülerinden elde edilen numuneler

Marmara bölgesinde yer alan CIA hastalığına karşı aşılanmış farklı yaş gruplarındaki (27, 32, 35, 45, 47 ve 54 haftalık) 6 damızlık sürüden toplam 120 adet kan serumu elde edildi (Çizelge 2.1).

2.1.1.2. Aşısız broyler damızlık sürülerinden elde edilen numuneler

İç Anadolu bölgesinde yer alan CIA hastalığına karşı aşılanmamış farklı yaş gruplarındaki 6 damızlık sürüden (31, 35, 38, 40, 42 ve 60 haftalık) toplam 98 adet kan serumu elde edildi (Çizelge 2.1).

2.1.1.3. Aşılı damızlıkların ticari broyler sürülerinden elde edilen numuneler

Marmara bölgesinde yer alan CIA hastalığına karşı aşılanmış 27 ve 54 haftalık damızlık sürülerin her birinden elde edilen 4’er ticari broyler sürüsünden, günlük, 1, 2, 3, 4 ve 5 haftalıkken toplam 934 adet kan serumu ve toplam 888 adet doku

örneği (222 timus, 222 karaciğer, 222 dalak, 222 kemik iliği) elde edildi. Diğer aşılı damızlık sürülerin her birinden elde edilen 4'er ticari broyler sürüsünden günlük ve 5 haftalıkken toplam 498 adet kan serumu ve toplam 488 adet doku örneği (122 timus, 122 karaciğer, 122 dalak, 122 kemik iliği) elde edildi. Böylece Marmara bölgesindeki ticari broyler sürülerinden toplam 1432 adet kan serumu ve 1376 adet doku örneği elde edildi (Çizelge 2.2.).

2.1.1.4. Aşısız damızlıkların ticari broyler sürülerinden elde edilen numuneler

İç Anadolu bölgesinde yer alan CIA hastalığına karşı aşılanmamış 40 ve 60 haftalık damızlık sürülerin her birinden elde edilen 4'er ticari broyler sürüsünden, günlük, 2, 3 ve 5 haftalıkken toplam 641 adet kan serumu ve 540 adet doku örneği (135 timus, 135 karaciğer, 135 dalak, kemik iliği) elde edildi. Diğer aşısız damızlık sürülere ait ticari broyler sürülerinden örnekleme yapılmadı (Çizelge 2.2.).

Çizelge 2.1. Örnekleme yapılan broyler damızlık sürüleri ve elde edilen numuneler

Örnekleme yapılan bölge	Damızlık yaşı (hafta)	Elde edilen Serum (n)	Toplam Serum (n)
Marmara *	27	20	120
	32	20	
	35	20	
	45	20	
	47	20	
	54	20	
İç Anadolu **	31	18	98
	35	17	
	38	16	
	40	16	
	42	16	
	60	15	

* CAV aşılı damızlıklar, ** CAV aşısız damızlıklar

Kan örnekleri günlük ticari broyler civcivlerden kesim yöntemiyle, broyler damızlık ve haftalık ticari broyler sürülerindeki tavuklardan *V. subcutanea ulnaris*' den enjektörle alındı ve serum tüplerine aktarıldı. Alınan kan örnekleri aynı gün içinde 2000 rpm'de 10 dk. santrifüj edilerek, serumları çıkarıldı. Serum örnekleri

ELISA (enzyme linked immuno sorbent assay) ile CAV antikor tespiti için iřletme adı, sűrű no, sűrű yaşı ve örnekleme tarihleri ile etiketlenerek -20 C' de muhafaza edildi.

Arařtırmada ticari broyler kűmeslerinin her birinden 3-6 hayvana nekropsi yapılarak timus, karacięer, dalak ve kemik ilięi örnekleri alındı. Doku rnekleri PCR ile CAV DNA tespiti için iřletme adı, sűrű no, sűrű yaşı ve örnekleme tarihleri ile etiketlenerek -86 C' de muhafaza edildi.

Çizelge 2.2. Örmeleme yapılan ticari broyler sürüleri ve elde edilen numuneler

Örmeleme yapılan bölge	Damızlık yaşı (hafta)	Ticari broyler sürü no	Günlük		1 Haftalık		2 Haftalık		3 Haftalık		4 Haftalık		5 Haftalık		Toplam	
			Serum (n)	Doku (n)	Serum (n)	Doku (n)	Serum (n)	Doku (n)	Serum (n)	Doku (n)	Serum (n)	Doku (n)	Serum (n)	Doku (n)	Serum (n)	Doku (n)
		A1	23	24	23	20	19	20	18	20	18	16	19	12	120	112
		A2	23	24	22	20	18	12	18	16	16	16	19	20	119	108
	27	A3	23	24	23	20	15	20	18	16	20	20	19	12	118	112
		A4	22	24	21	20	16	20	17	20	18	12	18	16	112	112
		A5	23	24	-	-	-	-	-	-	-	-	17	12	40	36
		A6	22	24	-	-	-	-	-	-	-	-	18	12	40	36
	32	A7	23	24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	23	24	
		A8	22	24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	22	24
		A9	23	24	-	-	-	-	-	-	-	-	13	12	36	36
		A10	22	24	-	-	-	-	-	-	-	-	20	16	42	40
	35	A11	22	24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	22	24	
		A12	23	24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	23	24
		A13	22	24	-	-	-	-	-	-	-	-	17	16	39	40
		A14	22	24	-	-	-	-	-	-	-	-	17	16	39	40
	45	A15	23	24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	23	24	
		A16	23	24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	23	24	
		A17	23	24	-	-	-	-	-	-	-	-	19	12	42	36
		A18	23	24	-	-	-	-	-	-	-	-	17	12	40	36
	47	A19	21	24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	21	24	
		A20	23	24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	23	24	
		A21	23	24	23	20	18	20	20	12	20	16	12	12	116	104
		A22	23	24	23	20	20	20	18	20	18	16	16	12	118	112
	54	A23	22	24	22	16	21	20	16	20	18	12	14	16	113	108
		A24	22	24	23	20	21	20	19	16	20	16	17	16	118	116
		Toplam	541	576	180	156	148	152	144	140	147	128	272	224	1432	1376

*CAV aşılı, ** CAV aşısız, - örnekleme yapılmadı

Marmara*

Çizelge 2.2.'nin devamı

Örnekleme yapılan bölge	Damızlık yaşı (hafta)	Ticari broyler sürü no	Günlük		2 Haftalık		3 Haftalık		5 Haftalık		Toplam	
			Serum (n)	Doku (n)	Serum (n)	Doku (n)	Serum (n)	Doku (n)	Serum (n)	Doku (n)	Serum (n)	Doku (n)
		B1	20	24	20	20	20	16	20	16	80	76
		B2	20	24	20	12	20	16	20	20	80	72
	40	B3	20	24	20	16	20	12	20	12	80	64
		B4	21	24	21	16	20	16	20	12	82	68
		B5	20	24	20	16	20	12	20	16	80	68
		B6	20	24	20	16	20	12	20	12	80	64
	60	B7	19	24	20	16	20	12	20	12	79	64
		B8	21	24	19	16	20	12	20	12	80	64
		Toplam	161	192	160	128	160	108	160	112	641	540

*CAV aşılı, ** CAV aşısız, - örnekleme yapılmadı

2.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

2.1.2.1. Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA)

Çalışmada Tavuk Anemi Virüs Antikor Test Kiti (Idexx, USA) kullanıldı. Kit içeriği Çizelge 2.3.'de verilmiştir.

Çizelge 2.3. ELISA kitinin içeriği

Sıra no	İçerik	Miktar
1.	CAV ile kaplanmış 96 kuyucuklu mikrotipler	5 adet
2.	Anti-CAV Konjugat Solüsyonu: Horseradish Peroxidase (HRPO) konjugatı	50 ml
3.	Negatif Kontrol: CAV'a karşı antikor taşımayan tavuk serumu	2 ml
4.	CAV Pozitif Kontrol: Anti-CAV serumu	2 ml
5.	Örnek Sulandırma Sıvısı: Protein stabilizatörlü tampon	235 ml
6.	Yıkama Solüsyonu (10X): Gentamisinle korunmuş fosfat tampon	235 ml
7.	TMB (Tetramethyl benzidine) Substratı	60 ml
8.	Durdurma Solüsyonu (H ₂ SO ₄)	60 ml

2.1.2.2. Polymerase Chain Reaction (PCR)

Çalışmada ticari firmalardan temin edilen CAV aşısı suşlarının DNA'sı (P24 ve Cux-1) referans viral DNA olarak kullanıldı.

Aşısı ve doku örneklerinden DNA ekstraksiyonu amacı ile QIAamp DNA Mini Kit (Katalog no: 51306, QIAamp DNA Mini kit, Qiagen Science, USA) kullanıldı. Kit içeriği Çizelge 2.4.'de verilmiştir.

Çizelge 2.4. DNA ekstraksiyon kitinin içeriği

Sıra no	İçerik	Miktar
1.	Toplama tüpleri içinde spin kolonlar	250 adet
2.	Toplama tüpleri (2 ml)	750 adet
3.	Buffer ATL	50 ml
4.	Buffer AL	54 ml
5.	Buffer AW1	95 ml
6.	Buffer AW2	66 ml
7.	Buffer AE	110 ml
8.	Proteinase K	6 ml

DNA amplifikasyonu aşamasında kullanılmak üzere Taq DNA polimeraz 5 U/µl (rekombinant) (Vivantis-PL1202), 10 x PCR buffer (160 mM (NH₄)₂SO₄, 500 mM Tris HCl, 17,5 mM MgCl₂, % 0,1 Triton x-100) (Vivantis-PL1202), nükleaz içermeyen su (Qiagen), 100 mM dNTPs 0.25 x 4 (Vivantis) ticari olarak sağlandı. Çalışmada Çizelge 2.5.'de baz dizini ve kaynağı verilen 675 bp'lik VP1 ve 387 bp'lik O3 gen primer seti ticari olarak sentezletirildi (Biomers GmbH, Germany).

Çizelge 2.5. Kullanılan Primerler

Primer	Sekans	Ürün boyutu	Referens
VP1(F)	5'GAC TGT AAG ATG GCA AGA CGA GCT C 3'(25)	675 bp	Todd ve ark. (1992)
VP1(R)	5'GGC TGA AGG ATC CCT CAT TC 3' (20)		
O3(F)	5'CAA GTA ATT TCA AAT GAA CG 3' (20)	387 bp	Cardona ve ark. (2000a)
O3(R)	5'TTG CCA TCT TAC AGT CTT AT 3' (20)		

(F) = Forward primer (R)= Reverse primer

Çoğaltılan DNA'nın elektroforezinde agaroz (Vivantis-PC0701), distile su, etidyum bromide 10 mg/ml (Vivantis-PC0707) ve 5X TBE buffer (0,089M Trisbase, 0,089M Borate, 0,002M EDTA) (Vivantis-PC0724), 6x Loading Dye solusyonu (Vivantis - NL0401) ve 100 bp'lik marker (Vivantis - NL0401) kullanıldı.

2.1.3. Kullanılan Cihaz ve Ekipmanlar

ELISA alışmalarında μ Quant MQX200 ELISA okuyucusu (Biotek) ve ELX50/8V ELISA yıkayıcısı (Biotek), PCR çalışmalarında termal cyclus cihazı (Boeco TC PRO), elektroforez cihazı (Cleaver Scientific MP-250), jel görüntüleme sistemi (Ingenius, Syngene Bio Imaging) ve mikrosantrifüj (Eppendorf 5417R), kullanıldı.

2.2. Yöntem

2.2.1. ELISA ile Serum CAV Antikorlarının Belirlenmesi

2.2.1.1. Testin yapılışı

Idexx ELISA kitinde bulunan yıkama solüsyonu 1:10 oranında dilue edildi. Damızlıklara ait serum örnekleri, antikor titresini hesaplamak amacıyla 1:100 oranında, ticari broyler sürülerine ait serum örnekleri ise maternal antikor ve antikor varlığını araştırmak amacıyla 1:10 oranında örnek sulandırma sıvısı ile sulandırıldı.

CAV antijeni ile kaplı pleytlerin A1 ve A2 kuyucuklarına 100 μ l negatif kontrol serumu, A3 ve A4 kuyucuklarına 100 μ l pozitif kontrol serumu konuldu. Hazırlanan serum örneklerinden 100 μ l miktarında diğer kuyucuklara eklendi. Pleytler oda ısısında 60 dk. bekletildi. Süre sonunda pleytler ELISA yıkayıcısına (ELX 50 –Biotek) yerleştirildi ve kuyucukların içerikleri aspire edilerek her bir kuyucuk 300 μ l yıkama solüsyonu ile 4 kez yıkandı. Yıkama sonrası 100 μ l konjugat her kuyucuğa eklendi ve oda ısısında 30 dk. bekletildi. Tekrar her bir kuyucuk 300 μ l yıkama solüsyonu ile 4 kez yıkandı. İkinci yıkama sonrası her çukura 100 μ l substrat eklenerek 15 dk. oda ısısında bekletildi. Reaksiyonu durdurmak için 100 μ l durdurma solüsyonu eklendi. Hazırlanan pleytler ELISA okuyucusunda (MikroQuant- Biotek) 650 nm’de okutuldu ve veriler X Check programı kullanılarak kaydedildi.

2.2.1.2. Test sonuçlarının değerlendirilmesi

Sonuçların değerlendirilmesinde ELISA kiti üretici firmanın kriterleri kullanıldı. Buna göre numunelerdeki antikorların varlığı ya da yokluğu her bir örnek için S/N (örnek/negatif) oranına göre belirlendi.

Negatif kontrol S/N (örnek/negatif) değeri 0.6'nın üzerinde ise ve pozitif kontrol S/N değeri 0.5'in altında ise test geçerli olarak kabul edildi.

Ticari broyler serumlarında (1:10 sulandırma) antikor varlığının değerlendirmesinde Çizelge 2.6.' de verilen bilgiler kullanıldı.

Çizelge 2.6. 1:10 örnek dilüsyonun ELISA testi sonuç değerlendirmesi

VN antikor titresi (log ₂)	Durum	ELISA S/N	Sonuç
< 1:16 (<4)	Negatif (titre yok)	>0.6	Negatif
1:31-1:128 (5-7)	Pozitif (Düşük titre)	0.59-0.20	Pozitif
>1:256 (>8)	Pozitif (Koruyucu titre)	<0.2	Pozitif

Damızlık serumlarında (1:100 sulandırma) antikor titre ve koruyuculuk düzeyinin değerlendirmesinde Çizelge 2.7. ve Çizelge 2.8.'da verilen bilgiler kullanıldı.

Çizelge 2.7. 1:100 örnek dilüsyonun ELISA testi sonuç değerlendirmesi

VN antikor titresi (log ₂)	Durum	ELISA S/N	Sonuç
< 1:128 (< 7)	Negatif/Düşük titre	>0.8	< 1000
1:256- 1:1024 (8-10)	Pozitif (Orta Koruyucu Titre)	0.80-0.20	1000-8660
>1:1024 (>10)	Pozitif (Yüksek Koruyucu Titre)	<0.2	> 8660

Çizelge 2.8. 1:100 örnek dilüsyonun ELISA gruplandırması

ELISA grup	ELISA ünite	ELISA S/N	Açıklama
0	<1000	>0.8	Negatif
1	1000-2460	0.8-0.55	Pozitif - (Orta Koruyucu titre)
2	2461-5050	0.54-0.35	Pozitif - (Orta Koruyucu titre)
3	5051-8660	0.34-0.02	Pozitif - (Orta Koruyucu titre)
4	>8661	<0.2	Pozitif - (Yüksek Koruyucu titre)

2.2.2. PCR ile Viral DNA'nın Belirlenmesi

2.2.2.1. Doku örneklerinden DNA ekstraksiyonu

DNA ekstraksiyonu QIAamp DNA Mini Kit'i kullanılarak üretici firmanın önerdiği dokudan DNA ekstraksiyon protokolüne göre düzenlendi.

Qiagen ekstraksiyon kitinde bulunan Buffer AW1 ve Buffer AW2 sırasıyla 125 ml ve 160 ml absolut etanol ile dilue edildi. Daha sonra her bir sürüye ait 3-6 hayvandan alınan doku örneklerinden (timus, kemik iliği, dalak, karaciğer) 50 mg alınarak steril koşullarda havanda homojenize edildi. Homojenattan 25-30 mg alınarak eppendorf tüpe koyuldu. Daha sonra tüpe 180 µl Buffer ATL ve 20 µl proteinaz K (Vivantis) eklendi ve tüp 56 °C'de doku tamamen lize olana kadar bekletildi. Lizis sonrasında tüpe 200 µl Buffer AL eklendi ve 10 dk 70 °C'de bekletildi. Süre sonunda karışıma 230 µl absolut etanol eklendi ve 15 sn vorteks ile karıştırıldı. Daha sonra tüp kısa bir süre kapaktaki damlaları uzaklaştırmak için santrifüj edildi. Eppendorf tüpü içerisindeki karışım, QIAamp spin kolon yerleştirilmiş olan 2 ml toplama tüpüne aktarıldı. Toplama tüpü kapağı kapatılıp 6000 x g (8000 rpm)'de 1 dk. santrifüj edildi. Santrifüj sonrası filtratı içeren toplama tüpü atıldı ve QIAamp spin kolon 2 ml'lik yeni toplama tüpüne yerleştirildi. QIAamp spin kolona 500 µl Buffer AW1 eklendi ve kapağı kapatılıp 6000 x g (8000 rpm)'de 1 dk. santrifüj edildi. Santrifüj sonrası filtratı içeren tüp atıldı ve QIAamp spin kolon 2 ml'lik yeni toplama tüpüne yerleştirildi. QIAamp spin kolona 500µl buffer AW2 eklendi ve kapağı kapatılıp 20000 x g (14000 rpm)'de 3 dk. santrifüj edildi. Santrifüj sonrası filtratı içeren tüp atıldı ve QIAamp spin kolon 2 ml'lik yeni toplama tüpüne yerleştirildi daha sonra 14000 rpm'de 1 dk. santrifüj edildi. Böylece kalan Buffer AW2 tamamen uzaklaştırıldı. QIAamp spin kolon 1.5 ml eppendorf tüpüne yerleştirildi ve üzerine 60 µl Buffer AE eklendi. Tüp oda ısısında 5 dk. inkübe edildikten sonra 6000 x g (8000 rpm)'de 1 dk. santrifüj edildi. Bu işlemler sonunda DNA ekstraktı eppendorf tüpünde toplandı ve bu ekstrakt -20 °C'de muhafaza edildi.

Aşıdan DNA ekstraksiyonu amacıyla, 1,5 ml santrifüj tüpüne 20 µl proteinaz K (Qiagen) ve phosphate buffer solution (PBS) ile sulandırılmış ($3.0 \log_{10} < \text{TCID}_{50} / 0.2 \text{ ml}$) liyofilize aşıdan 200 µl eklendi. Tüp 15 sn vorteks ile karıştırıldı. Üzerine

200 µl Buffer AL solusyonu eklenerek 56 °C’de 10 dk. bekletildi. Süre sonunda 230 µl absolut etanol eklendi ve 15 sn vorteksle karıştırıldı. Karışımdan sonra tüp kısa bir süre kapaktaki damlaları uzaklaştırmak için santrifüj edildi. Karışım dokudan DNA ekstraksiyon protokolünde olduğu gibi QIAamp spin kolon yerleştirilmiş olan 2 ml toplama tüpüne aktarıldı. Bundan sonraki aşamalarda dokudan DNA ekstraksiyon protokolü izlendi. Elde edilen ekstraktlar -20 °C’de muhafaza edildi.

2.2.2.2. DNA ekstraktlarının çoğaltılması

Elde edilen DNA ekstraktlarının çoğaltılması amacıyla, bu DNA ekstraktları 0.2 ml PCR tüplerinde son konsantrasyonu 50 µl olacak şekilde Çizelge 2.9.’da miktarları verilen PCR karışımı ile karıştırıldı.

Çizelge 2.9. PCR karışımın içeriği

Sıra no	İçerik	Miktar	Son konsantrasyon
1.	10X PCR Buffer	5µl	-
2.	MgCl ₂	-	1.75 mM
3.	5 mM dNTPs	4 µl	400 µM
4.	10 pmol/µl Primer F	2.0 µl	10 pmol/ µl
5.	10 pmol/µl Primer R	2.0 µl	10 pmol/ µl
6.	Taq Polimeraz (5 U/ µl)	0.25 µl	1.25 U
7.	H ₂ O	34.75 µl	-
8.	DNA örneği	2 µl	-
	Genel toplam	50 µl	-

Hazırlanan PCR karışımlarını içeren 0.2 ml’lik PCR tüpleri Çizelge 2.10.’ da detayı verilen ve daha önceden programlanmış termal cycler’a (Boeco) yerleştirilerek CAV DNA çoğaltma işlemi başlatıldı.

Çizelge 2.10. PCR’ de termal cyclus koşulları (Yılmaz ve ark. 2001)

Primerler	Başlangıç denatürasyonu	Siklus Aşamaları			Son uzama
		Denatürasyon	Bağlanma	Uzama	
VP1 (F) VP1 (R)	94°C 3 dakika	94°C 1 dakika	59°C 1 dakika	72°C 2 dakika	72°C 5 dakika
O3 (F) O3 (R)		35 siklus			

2.2.2.3. Çoğaltılan DNA’ların görüntülenmesi

Çoğaltılan CAV DNA’sını görüntülemek için 7 µl DNA örneği ve 2 µl marker’ın her biri ayrı ayrı 3 µl 6 x loading dye solusyonu ile karıştırıldı. Daha önceden hazırlanmış olan ve 10 µl etidyum bromide (10 µg/ml) içeren % 1’lik agaroz jele otomatik pipet yardımıyla yüklendi. Örnekle yüklü jel Tris-Borik asit-EDTA (TBE) tamponu içeren elektroforez tankına yerleştirildi ve 30 dk boyunca 160 V akımla elektroforez işlemine tabi tutuldu. Daha sonra bu jel UV transilluminatör (Ingenius, Syngene Bio Imaging) kullanılarak görüntüldü. Beklenen moleküler ağırlıkta olan ve UV ışık etkisiyle parlayan bantlar görüntüleme sistemi tarafından kaydedildi.

2.3. İstatistikî Analizler

Verilerin istatistikî analizlerinde ‘SPSS 13.0’ paket programı kullanıldı. Damızlık yaşı ile damızlıkların antikor titresini arasındaki ilişki tek yönlü varyans analiziyle (One Way ANOVA), damızlık yaşı ile civcivlere geçen maternal antikor düzeyi arasındaki ilişki Chi-Square testiyle, aşı ve aşısız damızlıkların ortalama antikor titrelerinin karşılaştırılması T testiyle istatistikî olarak değerlendirildi. Elde edilen sonuçlar $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$ olarak verildi. Değerlendirme sonucunda $p < 0,05$ ve altı istatistikî olarak önemli kabul edildi.

3. BULGULAR

Broyler damızlık ve ticari broyler sürülerinde tavuk anemi virüs (chicken anemia virus-CAV) antikor varlığını araştırmak amacıyla elde edilen serum örneklerinde enzyme-linked immuno sorbent assay (ELISA) ve ticari broyler sürülerinden elde edilen doku örneklerinde CAV VP1 ve O3 gen varlığını araştırmak amacıyla polymerase chain reaction (PCR) yapıldı.

3.1. Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) Bulguları

3.1.1. Aşılı Broyler Damızlık Sürülerinin ELISA Bulguları

Marmara bölgesindeki Tavuk infeksiyöz anemi (chicken infectious anemia-CIA) hastalığına karşı aşılanmış 27, 32, 35, 45, 47 ve 54 haftalık broyler damızlık sürülerinden elde edilen 120 serum örneğinin ELISA çalışma sonuçlarına göre 6 broyler damızlık sürünün tamamının seropozitif olduğu, bu damızlıklardan elde edilen 120 serumun % 40'ının (48) yüksek düzeyde koruyucu, % 59.2'sinin (71) orta düzeyde koruyucu titreye sahip olduğu ve % 0.8'nin (1) de CAV'a karşı antikor taşımadığı belirlendi (Çizelge 3.1.).

Farklı yaşlardaki damızlıkların ortalama antikor titrelerini karşılaştırdığımızda, en yüksek antikor titresine 27 haftalık damızlıkların, en düşük antikor titresine 54 haftalık damızlıkların sahip olduğu belirlendi (Çizelge 3.2.). Damızlık yaşı ile antikor titresini arasındaki ilişkiyi belirlemek için yapılan tek yönlü varyans analizi sonucunda, damızlıkların ortalama antikor titreleri arasındaki fark istatistikî olarak önemli bulunmadı (Anova, $p>0.05$).

Çizelge 3.1. Aşılı broyler damızlık sürülerinin koruyucu antikor titre grupları

Yaş (hafta)	Serum (n)	0 grup* (Titre<1000)		1 grup** (1000-2460)		2 grup** (2461-5050)		3 grup** (5051-8660)		4 grup*** (Titre>8660)	
		(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)
27	20	0	0.0	1	5.0	2	10.0	7	35.0	10	50.0
32	20	0	0.0	1	5.0	6	30.0	4	20.0	9	45.0
35	20	0	0.0	1	5.0	2	10.0	8	40.0	9	45.0
45	20	0	0.0	0	0.0	6	30.0	6	30.0	8	40.0
47	20	0	0.0	0	0.0	4	20.0	11	55.0	5	25.0
54	20	1	5.0	3	15.0	4	20.0	5	25.0	7	35.0
Toplam	120	1	0.8	6	5.0	24	20.0	41	34.2	48	40.0

*Negatif **Orta düzeyde koruyucu titre ***Yüksek koruyucu titre

Çizelge 3.2. Aşılı broyler damızlık sürülerinin ortalama antikor titreleri

Yaş (hafta)	Serum (n)	\bar{X}	\pm	$S_{\bar{x}}$	Min.	Max.
27	20	7164.75	\pm	482.02	1470.0	8661.0
32	20	6534.20	\pm	548.76	2129.0	8661.0
35	20	6999.20	\pm	468.05	1545.0	8661.0
45	20	6434.30	\pm	503.42	2503.0	8661.0
47	20	6519.75	\pm	460.95	3007.0	8661.0
54	20	6137.55	\pm	637.54	999.0	8661.0
Toplam	120	6631.63	\pm	210.37	999.0	8661.0

3.1.2. Aşısız Broiler Damızlık Sürülerinin ELISA Bulguları

İç Anadolu bölgesinde CIA hastalığına karşı aşılammış 31, 35, 38, 40, 42 ve 60 haftalık broiler damızlık sürülerinden elde edilen 98 serum örneğinin ELISA çalışma sonuçlarına göre, 6 broiler damızlık sürünün tamamının seropozitif olduğu, bu damızlıklardan elde edilen 98 serumun % 48.6'sının (48) yüksek düzeyde koruyucu, % 51.4'nün (50) orta düzeyde koruyucu titreye sahip olduğu belirlendi (Çizelge 3.3.).

Farklı yaşlardaki broiler damızlık sürülerinin ortalama antikor titreleri karşılaştırıldığında 42 haftalık damızlıkların en yüksek titreye sahip olduğu 60 haftalık damızlıkların ise en düşük titreye sahip olduğu belirlendi (Çizelge 3.4.). Farklı yaşlardaki damızlıkların ortalama antikor titreleri arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunmadı (Anova, $p>0.05$).

Çizelge 3.3. Aşısız broyler damızlık sürülerinin koruyucu antikor titre grupları

Yaş (hafta)	Serum (n)	0 grup (Titre<1000) Negatif		1 grup (1000-2460) Pozitif		2 grup (2461-5050) Pozitif		3 grup (5051-8660) Pozitif		4 grup (Titre>8660) Pozitif	
		(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)
31	18	0	0.0	0	0.0	5	27.8	3	16.7	10	55.5
35	17	0	0.0	1	5.9	5	29.4	3	17.6	8	47.0
38	16	0	0.0	0	0.0	5	31.3	2	12.5	9	56.3
40	16	0	0.0	1	6.3	3	18.7	3	18.7	9	56.3
42	16	0	0.0	0	0.0	3	18.7	4	25.0	9	56.3
60	15	0	0.0	0	0.0	7	46.7	5	33.3	3	20.0
Toplam	98	0	0.0	2	2.0	28	28.8	20	20.6	48	48.6

*Negatif **Orta düzeyde koruyucu titre ***Yüksek koruyucu titre

Çizelge 3.4. Aşısız broyler damızlık sürülerinin ortalama antikor titreleri

Yaş (hafta)	Serum (n)	\bar{X}	\pm	$S_{\bar{x}}$	Min.	Max.
31	18	6966.11	\pm	508.91	3460.00	8661.00
35	17	6310.53	\pm	594.75	2337.00	8661.00
38	16	6735.94	\pm	593.41	2880.00	8661.00
40	16	6139.00	\pm	443.27	1540.00	8661.00
42	16	7346.06	\pm	508.22	2880.00	8661.00
60	15	5939.07	\pm	444.77	4112.00	8661.00
Toplam	98	6572.79	\pm	219.66	1540.00	8661.00

3.1.3. Aşılı ve Aşısız Broyler Damızlıkların Antikor Titrelerinin Karşılaştırılması

Tavuk infeksiyöz anemi hastalığına karşı aşılı ve aşısız damızlıkların ortalama antikor titreleri karşılaştırıldığında her iki grubun da orta koruyucu antikor titresine sahip olduğu (Çizelge 3.5.) ve iki grup arasındaki farklılığın istatistiki olarak önemli olmadığı belirlendi (T-test $p>0.05$).

Çizelge 3.5. Aşılı ve aşısız broyler damızlıkların ortalama antikor titreleri

Broyler Damızlık	Serum (n)	\bar{X}	\pm	$S_{\bar{x}}$
CAV aşılı	120	6631.62	\pm	210.36
CAV aşısız	98	6572.79	\pm	219.65

3.1.4. Aşılı Damızlıklardan Elde Edilen Ticari Broyler Sürülerinin ELISA Bulguları

Aşılı broyler damızlıkların ticari broyler sürülerinde maternal antikor seyri ve antikor varlığı incelendiğinde, günlük 24 sürüde ve 1 haftalık 8 sürüde maternal antikor oranının % 100 oranında bulunduğu, 2 haftalık 8 sürüde % 9 – 50 arasında olduğu, 3 haftalık 8 sürüde bu oranının % 0 - 11 arasında olduğu ve maternal antikor titresinin koruyucu düzeyde olmadığı, 4 haftalık 8 sürünün % 62.5'inde (seropozitiflik oranı % 5-10), 5 haftalık 16 sürünün % 93.8'inde (seropozitiflik oranı % 5-94) CAV antikor varlığı belirlendi. (Çizelge 3.6., Çizelge 3.7., Çizelge 3.8.).

Aşılı 27 ve 54 haftalık damızlıklardan elde edilen 8 ticari broyler sürünün haftalara göre ortalama seropozitiflik oranları Grafik 3.1.'de verilmiştir.

Çizelge 3.6. Aşılı 27 haftalık damızlıkların ticari broyler sürülerinin haftalara göre seropozitiflik oranı

Sürü no	Ticari broyler vası	Serum (n)	Pozitif serum (n)	Seropozitif (%)	Elisa SN AO	SD
A1	Günlük	23	23	100	0.13	0.06
A2	Günlük	23	23	100	0.12	0.06
A3	Günlük	23	23	100	0.11	0.05
A4	Günlük	22	22	100	0.12	0.04
Toplam		91	91	100		
A1	1 haftalık	23	23	100	0.14	0.06
A2	1 haftalık	22	22	100	0.14	0.05
A3	1 haftalık	23	23	100	0.11	0.06
A4	1 haftalık	21	21	100	0.13	0.08
Toplam		89	89	100		
A1	2 haftalık	19	9	47	0.55	0.22
A2	2 haftalık	18	2	11	0.71	0.11
A3	2 haftalık	15	7	47	0.66	0.22
A4	2 haftalık	16	2	12.5	0.84	0.22
Toplam		68	20	29		
A1	3 haftalık	18	1	5	0.89	0.15
A2	3 haftalık	18	2	11	0.95	0.15
A3	3 haftalık	18	0	0	1.02	0.24
A4	3 haftalık	17	0	0	1.22	0.40
Toplam		73	3	4		
A1	4 haftalık	18	0	0	1.20	0.42
A2	4 haftalık	19	2	0	0.95	0.24
A3	4 haftalık	20	2	10	1.01	0.31
A4	4 haftalık	18	1	5	0.89	0.18
Toplam		73	3	4		
A1	5 haftalık	19	1	5	0.76	0.08
A2	5 haftalık	19	3	16	0.69	0.10
A3	5 haftalık	19	13	68	0.39	0.31
A4	5 haftalık	18	8	50	0.50	0.31
Toplam		75	25	33		

AO: Aritmetik ortalama, SD: Standart sapma,

Çizelge 3.7. Aşılı 54 haftalık damızlıkların ticari broyler sürülerinin haftalara göre seropozitiflik oranı

Sürü no	Ticari broyler yaşı	Serum (n)	Pozitif Serum (n)	Seropozitif (%)	Elisa SN	SD
					AO	(%)
A5	Günlük	23	23	100	0.15	0.08
A6	Günlük	23	23	100	0.12	0.06
A7	Günlük	22	22	100	0.18	0.08
A8	Günlük	22	22	100	0.12	0.05
Toplam		90	90	100		
A5	1 haftalık	23	23	100	0.11	0.05
A6	1 haftalık	23	23	100	0.16	0.06
A7	1 haftalık	22	22	100	0.15	0.06
A8	1 haftalık	23	23	100	0.17	0.05
Toplam		91	91	100		
A5	2 haftalık	18	9	50	0.69	0.25
A6	2 haftalık	20	2	10	0.83	0.19
A7	2 haftalık	21	2	9	0.74	0.10
A8	2 haftalık	21	4	19	0.74	0.15
Toplam		80	17	21		
A5	3 haftalık	20	1	5	0.86	0.09
A6	3 haftalık	18	0	0	0.76	0.10
A7	3 haftalık	16	0	0	0.79	0.10
A8	3 haftalık	19	1	5	0.84	0.08
Toplam		73	2	3		
A5	4 haftalık	20	1	5	0.82	0.10
A6	4 haftalık	18	0	0	0.95	0.05
A7	4 haftalık	18	1	5	0.90	0.08
A8	4 haftalık	16	1	6	0.77	0.18
Toplam		70	4	6		
A5	5 haftalık	12	1	8	0.80	0.15
A6	5 haftalık	16	1	6	0.77	0.09
A7	5 haftalık	14	2	14	0.69	0.10
A8	5 haftalık	17	16	94	0.20	0.14
Toplam		61	19	31		

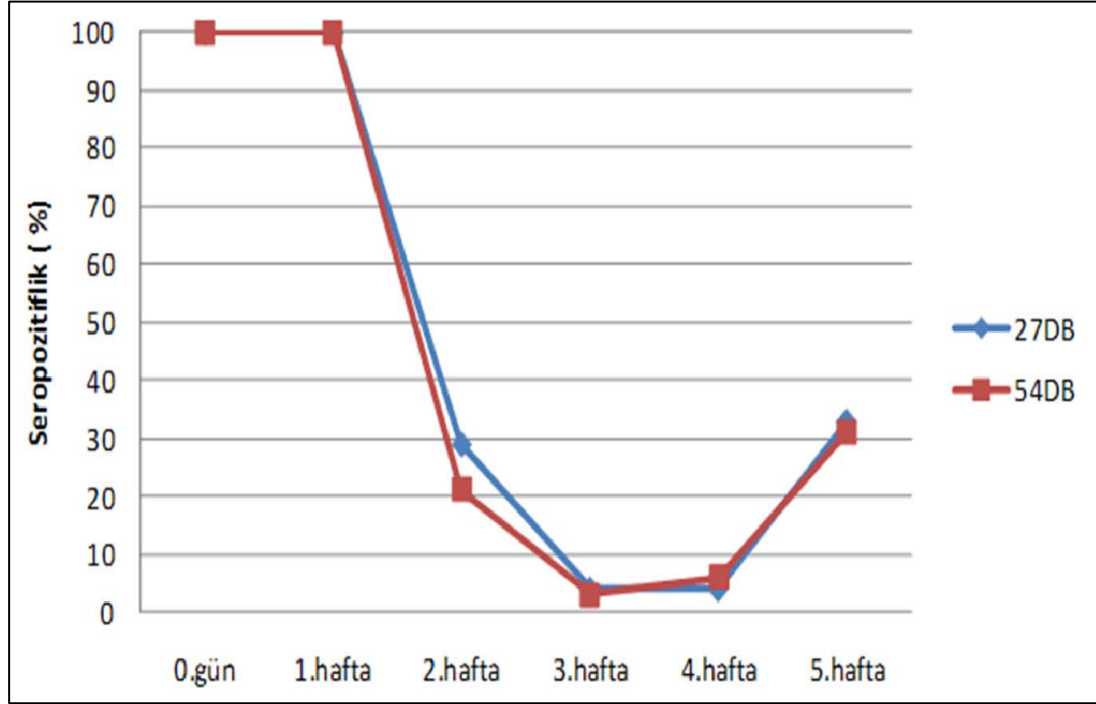
AO: Aritmetik ortalama, SD: Standart sapma,

Çizelge 3.8. Aşılı 32, 35, 45 ve 47 haftalık damızlıkların ticari broyler sürülerinin günlük ve 5 haftalık seropozitiflik oranı

Sürü no	Damızlık yaş (hafta)	Ticari broyler yaşı	Serum (n)	Pozitif (n)	Seropozitif (%)	Elisa SN AO	SD
A9	32	Günlük	23	23	100	0.11	0.05
A10	32	Günlük	22	22	100	0.12	0.07
A11	32	Günlük	23	23	100	0.13	0.05
A12	32	Günlük	22	22	100	0.11	0.05
Toplam			90	90	100		
A9	32	5 haftalık	17	11	65	0.40	0.14
A10	32	5 haftalık	18	10	55	0.49	0.15
A11	32	5 haftalık	-	-	-	-	
A12	32	5 haftalık	-	-	-	-	
Toplam			35	21	60		
A13	35	Günlük	23	23	100	0.10	0.04
A14	35	Günlük	22	22	100	0.12	0.06
A15	35	Günlük	22	22	100	0.12	0.07
A16	35	Günlük	23	23	100	0.12	0.06
Toplam			90	90	100		
A13	35	5 haftalık	13	5	38	0.54	0.17
A14	35	5 haftalık	20	15	75	0.42	0.08
A15	35	5 haftalık	-	-	-	-	
A16	35	5 haftalık	-	-	-	-	
Toplam			33	20	61		
A17	45	Günlük	22	22	100	0.11	0.05
A18	45	Günlük	22	22	100	0.13	0.07
A19	45	Günlük	23	23	100	0.13	0.06
A20	45	Günlük	23	23	100	0.12	0.06
Toplam			90	90	100		
A17	45	5 haftalık	17	2	12	0.79	0.17
A18	45	5 haftalık	17	0	0	0.75	0.16
A19	45	5 haftalık	-	-	-	-	
A20	45	5 haftalık	-	-	-	-	
Toplam			34	2	6		
A21	47	Günlük	23	23	100	0.11	0.03
A22	47	Günlük	23	23	100	0.12	0.07
A23	47	Günlük	21	21	100	0.12	0.05
A24	47	Günlük	23	23	100	0.13	0.05
Toplam			90	90	100		
A21	47	5 haftalık	19	13	68	0.41	0.12
A22	47	5 haftalık	17	12	71	0.45	0.14
A23	47	5 haftalık	-	-	-	-	
A24	47	5 haftalık	-	-	-	-	
Toplam			36	25	69		

- : Örnekleme yapılmadı, AO: Aritmetik ortalama, SD: Standart sapma

Grafik 3.1. Aşılı 27 ve 54 haftalık damızlıkların ticari broyler sürülerinin haftalara göre ortalama seropozitiflik oranları



27DB: 27 haftalık damızlıkların ticari broyler sürüleri
54DB: 54 haftalık damızlıkların ticari broyler sürüleri

Damızlık yaşı ile civcivlere geçen maternal antikor düzeyi arasındaki ilişki incelendiğinde, 27 haftalık damızlıklardan elde edilen 91 adet günlük civcivin % 92'sinin (84) yüksek titreye, % 8'inin (7) düşük titreye sahip olduğu, 54 haftalık damızlıklardan elde edilen 90 adet günlük civcivin % 66.6'sının (59) yüksek titreye, % 34.4'ünün (31) düşük titreye sahip olduğu belirlendi (Çizelge 3.9.). Bu fark istatistiki olarak önemli bulundu (Chi-Square, $p < 0.05$).

Çizelge 3.9. Aşılı damızlıklardan elde edilen günlük civcivlerin maternal antikor koruyuculuk düzeyleri

Damızlık yaşı	0 grup*		1 grup**		2 grup***		Toplam	
	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)
27	0	0	7	18.4	84	53.50	91	50.28
54	0	0	31	81.6	59	46.50	90	49.72
Toplam	0	0	38	100	157	100	181	100

* Negatif ** Düşük titre *** Yüksek titre

3.1.5. Aşısız Damızlıklardan Elde Edilen Ticari Broyler Sürülerinin ELISA Bulguları

Aşısız 40 ile 60 haftalık damızlıklardan elde edilen toplam 8 ticari broyler sürüsünün günlük civcivlerinden alınan 162 serum örneğinde sırasıyla % 98 (78/80) ve % 100 (81/81) oranında maternal antikor varlığı belirlendi. Bu sürülerin antikor seyri incelendiğinde; 2 haftalıkken % 5 - 60, 3 haftalıkken % 5 – 15 arasında bir seropozitiflik oranına sahip oldukları ve 5 haftalıkken sürülerin seronegatif olduğu belirlendi (Çizelge 3.10., Çizelge 3.11.) Bu 8 ticari broyler sürüsünün haftalara göre ortalama seropozitiflik oranları Grafik 3.2.'de verilmiştir.

Çizelge 3.10. Aşısız 40 haftalık damızlıkların ticari broyler sürülerinin haftalara göre seropozitiflik oranı

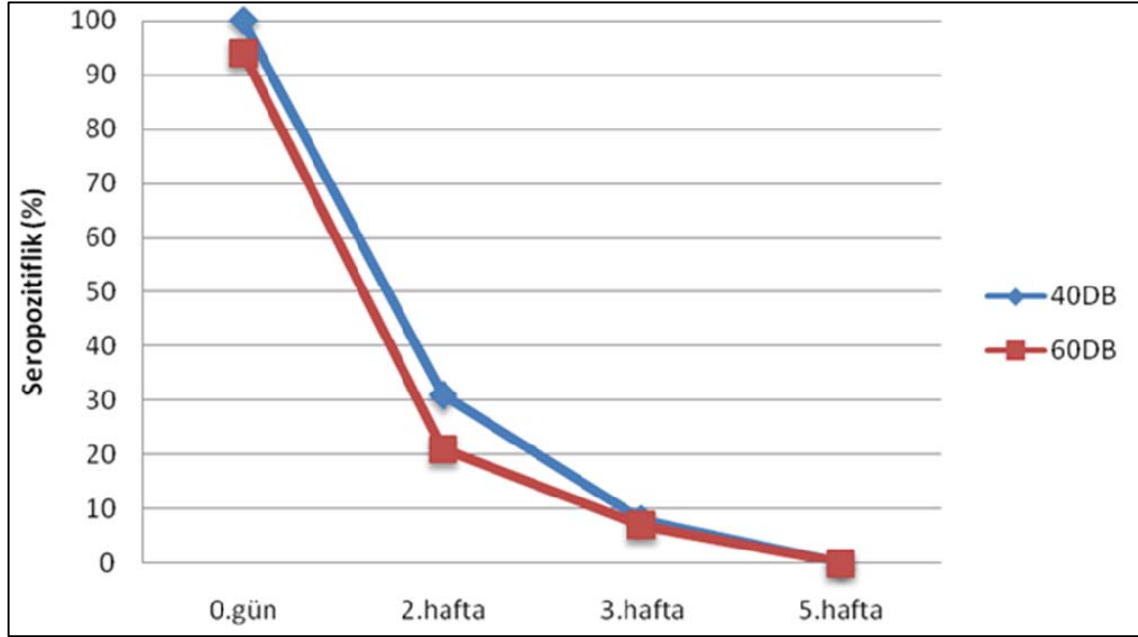
Sürü No	Ticari broyler yaşı	Serum (n)	Pozitif (n)	Seropozitif (%)	Elisa SN AO	SD
B1	Günlük	20	20	100	0.09	0.08
B2	Günlük	20	20	100	0.10	0.09
B3	Günlük	20	20	100	0.07	0.06
B4	Günlük	21	21	100	0.11	0.18
Toplam		81	81	100		
B1	2 haftalık	20	6	30	0.65	0.28
B2	2 haftalık	20	4	20	0.85	0.19
B3	2 haftalık	20	12	60	0.55	0.17
B4	2 haftalık	21	3	15	0.71	0.14
Toplam		81	25	31		
B1	3 haftalık	20	2	10	0.83	0.16
B2	3 haftalık	20	2	10	0.85	0.17
B3	3 haftalık	20	2	10	0.88	0.29
B4	3 haftalık	20	1	5	0.88	0.19
Toplam		80	7	8		
B1	5 haftalık	20	0	0	1.03	0.09
B2	5 haftalık	20	0	0	1.07	0.12
B3	5 haftalık	20	0	0	0.96	0.20
B4	5 haftalık	20	0	0	1.00	0.30
Toplam		80	1	0		

- : Örnekleme yapılmadı, **AO**: Aritmetik ortalama, **SD**: Standart sapma,

Çizelge 3.11. Aşısız 60 haftalık damızlıkların ticari broyler sürülerinin haftalara göre seropozitiflik oranı

Sürü no	Ticari broyler yaşı	Serum (n)	Pozitif (n)	Seropozitif (%)	Elisa SN AO	SD
B5	Günlük	20	20	100	0.15	0.05
B6	Günlük	20	20	100	0.25	0.09
B7	Günlük	19	18	90	0.21	0.08
B8	Günlük	21	20	95	0.15	0.06
Toplam		80	78	98		
B5	2 haftalık	20	7	35	0.67	0.26
B6	2 haftalık	20	2	10	0.77	0.18
B7	2 haftalık	20	1	5	0.82	0.15
B8	2 haftalık	19	7	37	0.60	0.20
Toplam		79	17	21		
B5	3 haftalık	20	1	5	0.88	0.19
B6	3 haftalık	20	1	5	0.79	0.17
B7	3 haftalık	20	1	5	0.90	0.19
B8	3 haftalık	20	3	15	0.88	0.21
Toplam		80	6	7		
B5	5 haftalık	20	0	0	1.07	0.08
B6	5 haftalık	20	0	0	1.05	0.10
B7	5 haftalık	20	0	0	1.09	0.06
B8	5 haftalık	20	0	0	1.06	0.05
Toplam		80	0	0		

Grafik 3.2. Aşısız 40 ve 60 haftalık damızlıkların ticari broyler sürülerinin haftalara göre ortalama seropozitiflik oranları



40DB: 40 haftalık damızlıkların ticari broyler sürüleri
60DB: 60 haftalık damızlıkların ticari broyler sürüleri

Damızlık yaşı ile civcivlere geçen maternal antikor titresi arasında ilişki incelendiğinde 40 haftalık damızlıklardan elde edilen 81 adet günlük civcivin % 87.6'nın (71) yüksek titreye, % 22.4'nün (10) düşük titreye sahip olduğu, 60 haftalık damızlıklardan elde edilen 80 adet günlük civcivin % 73.7'nin (59) yüksek titreye, % 26.3'nün (21) düşük titreye sahip olduğu belirlendi (Çizelge 3.12.). Bu fark istatistiki olarak önemli bulunmadı (Chi-Square, $p>0.05$).

Çizelge 3.12. Aşısız damızlıklardan elde edilen günlük civcivlerin maternal antikor koruyuculuk düzeyleri

Damızlık yaşı	0 grup*		1 grup**		2 grup***		Toplam	
	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)
40 hafta	0	0	10	34.48	71	54.62	81	50.31
60 hafta	0	0	21	67.74	59	45.38	80	49.69
Toplam	0	0	31	100	130	100	161	100

* Negatif ** Düşük titre *** Yüksek titre

3.2. PCR Bulguları

3.2.1. Aşılı Damızlıklardan Elde Edilen Ticari Broyle Sürülerinin PCR Bulguları

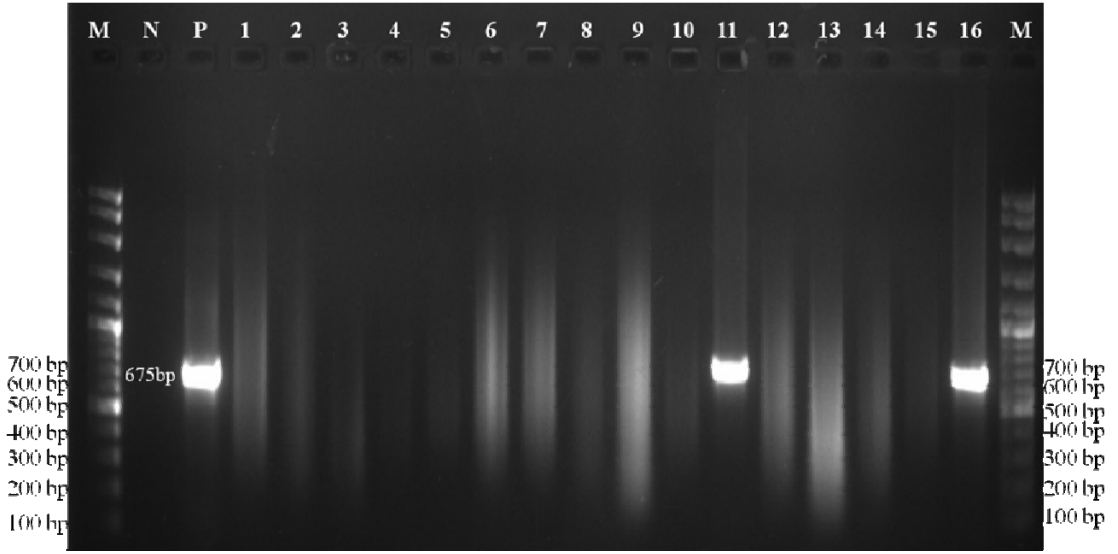
Marmara bölgesinde bulunan, aşılı 27, 32, 35, 45, 47 ve 54 haftalık broyle damızlık sürülerinden elde edilen 24 ticari broyle sürüden alınan doku örneklerinde VP1 (675bp) ve O3 (387bp) gen primer setleri kullanılarak yapılan PCR sonucunda; günlük, 1 ve 2 haftalık sürülerde CAV DNA'sı belirlenmezken, 3 haftalık 2 ticari broyle sürüde (A3, A8) VP1 geni (Şekil 2.1.) ve O3 geni (Şekil 2.4.), 4 haftalık 3 ticari broyle sürede (A3, A4, A8) VP1 geni (Şekil 2.2.) ve O3 geni (Şekil 2.5.) ve 5 haftalık 6 ticari broyle sürüde (A3, A4, A8, A9, A21, A22) VP1 geni (Şekil 2.2., Şekil 2.3.) ve O3 geni (Şekil 2.5., Şekil 2.6.) belirlendi.

3.2.2. Aşısız Damızlıklardan Elde Edilen Ticari Broyle Sürülerinin PCR Bulguları

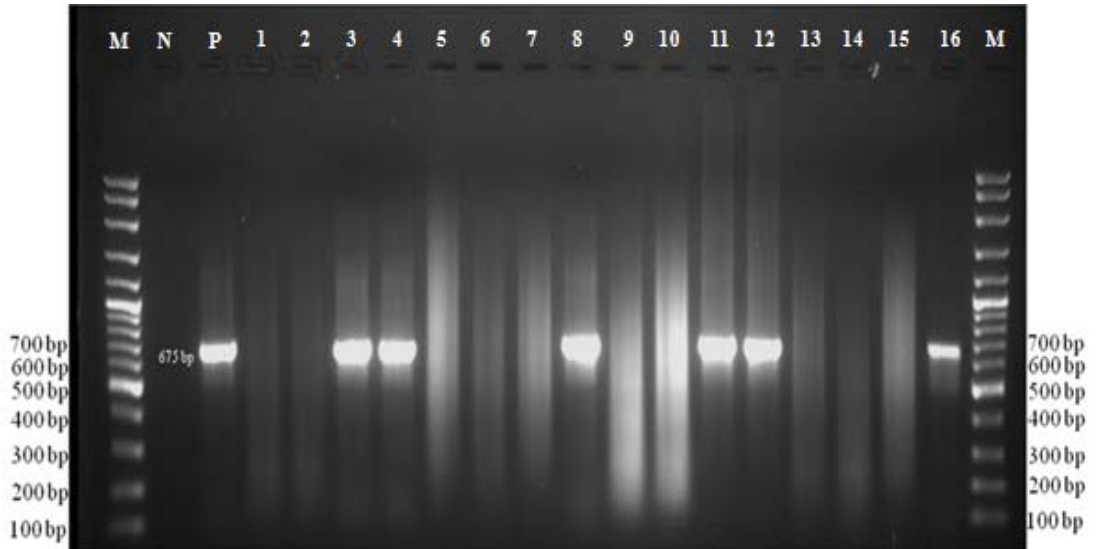
İç Anadolu bölgesinde CIA hastalığına karşı aşılınmamış 40 ile 60 haftalık broyle damızlıkların 8 ticari broyle sürüsünden günlük, 2, 3, ve 5 haftalıkken alınan doku örneklerinde VP1 (675bp) ve O3 (387bp) gen primer setleri kullanılarak yapılan PCR sonucunda VP1 ve O3 genleri belirlenmedi.

3.2.3. VP1 ve O3 Gen Primerleri Kullanılarak Yapılan PCR Sonuçlarının Karşılaştırılması

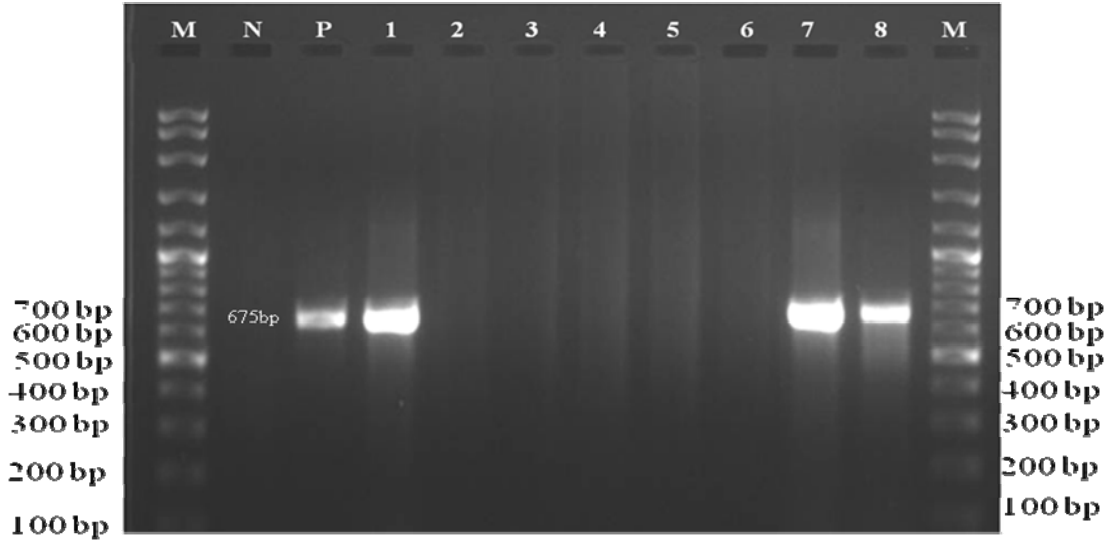
Marmara ve İç Anadolu bölgesindeki ticari broyle sürülerinden elde edilen doku homejanatlarında CAV genlerinin belirlenmesi amacıyla VP1 ve O3 primer setleri kullanılarak yapılan PCR sonucunda her iki primer seti arasında farklılık belirlenmemiştir. Her iki primer setiyle de Marmara bölgesinde örnekleme yapılan 6 ticari broyle sürüsünde CAV VP1 ve O3 genleri belirlenirken İç Anadolu bölgesinde örnekleme yapılan ticari broyle sürülerinde CAV VP1 ve O3 genlerinin varlığı belirlenmemiştir.



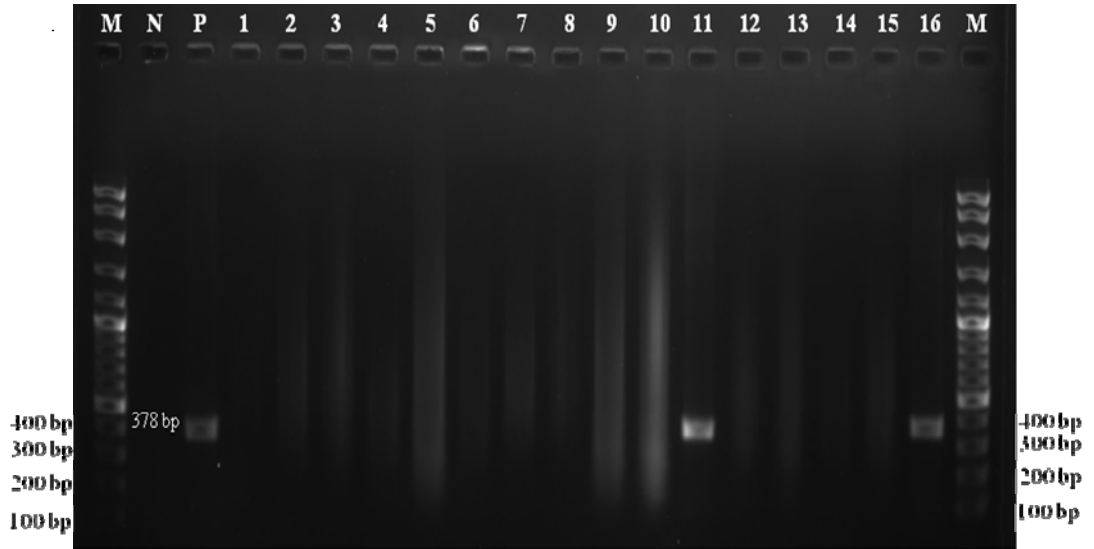
Şekil 3.1. Aşılı 27 ve 54 haftalık damızlıkların 2 ve 3 haftalık ticari broyler sürülerinden alınan doku örneklerinde CAV VP1 gen varlığı. **M:** 100bp DNA size marker, **N:** negatif kontrol, **P:** pozitif kontrol, **1, 2, 3, 4:** 27 haftalık damızlıkların sırasıyla A1, A2, A3, A4 nolu 2 haftalık ticari broyler sürüleri, **5, 6, 7, 8:** 54 haftalık damızlıkların sırasıyla A5, A6, A7, A8 nolu 2 haftalık ticari broyler sürüleri, **9, 10, 11, 12:** 27 haftalık damızlıkların sırasıyla A1, A2, A3, A4 nolu 3 haftalık ticari broyler sürüleri, **13, 14, 15, 16:** 54 haftalık damızlıkların sırasıyla A5, A6, A7, A8 nolu 3 haftalık ticari broyler sürüleri.



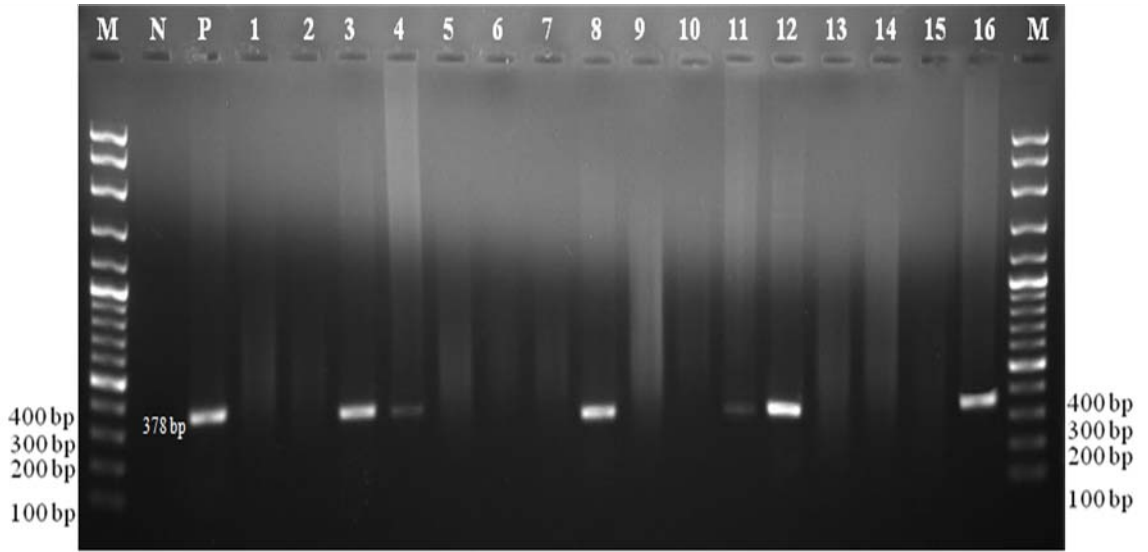
Şekil 3.2. Aşılı 27 ve 54 haftalık damızlıkların 4 ve 5 haftalık ticari broyler sürülerinden alınan doku örneklerinde CAV VP1 gen varlığı. **M:** 100bp DNA size marker, **N:** negatif kontrol, **P:** pozitif kontrol, **1, 2, 3, 4:** 27 haftalık damızlıkların sırasıyla A1, A2, A3, A4 nolu 4 haftalık ticari broyler sürüleri, **5, 6, 7, 8:** 54 haftalık damızlıkların sırasıyla A5, A6, A7, A8 nolu 4 haftalık ticari broyler sürüleri, **9, 10, 11, 12:** 27 haftalık damızlıkların sırasıyla A1, A2, A3, A4 nolu 5 haftalık ticari broyler sürüleri, **13, 14, 15, 16:** 54 haftalık damızlıkların sırasıyla A5, A6, A7, A8 nolu 5 haftalık ticari broyler sürüleri.



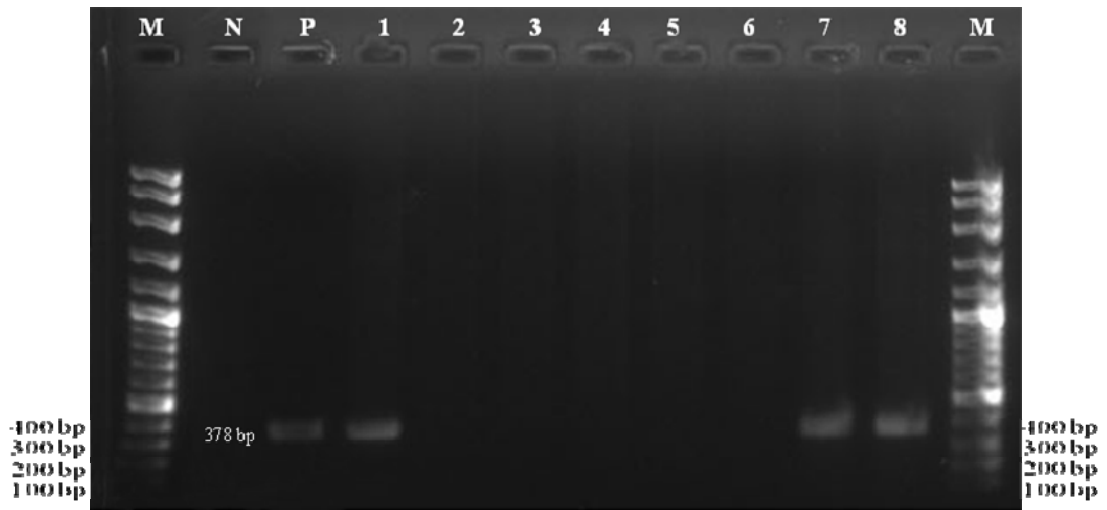
Şekil 3.3. Aşılı 32, 35, 45 ve 47 haftalık damızlıkların 5 haftalık ticari broyler sürülerinden alınan doku örneklerinde CAV VP1 gen varlığı. **M:** 100bp DNA size marker, **N:** negatif kontrol, **P:** pozitif kontrol, **1, 2:** 32 haftalık damızlıkların sırasıyla A9, A10 ticari broyler sürüleri, **3, 4:** 35 haftalık aşılı damızlıkların sırasıyla A13, A14 nolu ticari broyler sürüleri, **5, 6:** 45 haftalık aşılı damızlıkların sırasıyla A17, A18 nolu ticari broyler sürüleri, **7, 8:** 47 haftalık aşılı damızlıkların sırasıyla A21, A22 nolu ticari broyler sürüleri.



Şekil 3.4. Aşılı 27 ve 54 haftalık damızlıkların 2 ve 3 haftalık ticari broyler sürülerinden alınan doku örneklerinde CAV O3 gen varlığı. **M:** 100bp DNA size marker, **N:** negatif kontrol, **P:** pozitif kontrol, **1, 2, 3, 4:** 27 haftalık damızlıkların sırasıyla A1, A2, A3, A4 nolu 2 haftalık ticari broyler sürüleri, **5, 6, 7, 8:** 54 haftalık damızlıkların sırasıyla A5, A6, A7, A8 nolu 2 haftalık ticari broyler sürüleri, **9, 10, 11, 12:** 27 haftalık damızlıkların sırasıyla A1, A2, A3, A4 nolu 3 haftalık ticari broyler sürüleri, **13, 14, 15, 16:** 54 haftalık damızlıkların sırasıyla A5, A6, A7, A8 nolu 3 haftalık ticari broyler sürüleri.



Şekil 3.5. Aşılı 27 ve 54 haftalık damızlıkların 4 ve 5 haftalık ticari broyler sürülerinden alınan doku örneklerinde CAV O3 gen varlığı. **M:** 100bp DNA size marker, **N:** negatif kontrol, **P:** pozitif kontrol, **1, 2, 3, 4:** 27 haftalık damızlıkların sırasıyla A1, A2, A3, A4 nolu 4 haftalık ticari broyler sürüleri, **5, 6, 7, 8:** 54 haftalık damızlıkların sırasıyla A5, A6, A7, A8 nolu 4 haftalık ticari broyler sürüleri, **9, 10, 11, 12:** 27 haftalık damızlıkların sırasıyla A1, A2, A3, A4 nolu 5 haftalık ticari broyler sürüleri, **13, 14, 15, 16:** 54 haftalık damızlıkların sırasıyla A5, A6, A7, A8 nolu 5 haftalık ticari broyler sürüleri.



Şekil 3.6. Aşılı 32, 35, 45 ve 47 haftalık damızlıkların 5 haftalık ticari broyler sürülerinden alınan doku örneklerinde CAV O3 gen varlığı. **M:** 100bp DNA size marker, **N:** negatif kontrol, **P:** pozitif kontrol, **1, 2:** 32 haftalık damızlıkların sırasıyla A9 ve A10 nolu ticari broyler sürüleri, **3, 4:** 35 haftalık damızlıkların sırasıyla A13 ve A14 nolu ticari broyler sürüleri, **5, 6:** 45 haftalık damızlıkların sırasıyla A17 ve A18 nolu ticari broyler sürüleri **7, 8:** 47 haftalık damızlıkların sırasıyla A21 ve A22 nolu ticari broyler sürüleri.

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Tavuk infeksiyöz anemi (chicken infectious anemia-CIA) hastalığı bütün yaş gruplarındaki tavuklarda görülsede, vertikal bulaşmaya bağlı olarak özellikle civcivlerde klinik belirtilerin gözlemlendiği immünosupresif viral bir hastalıktır. İmmün sistemin gelişmesine bağlı olarak 3-4 haftalıktan büyük tavuklarda CIA hastalığı subklinik seyretmesine rağmen immünosupresif bir başka hastalık varlığında klinik hastalık tablosu görülebilir. CIA'nın immünosupresif bir hastalık olması nedeniyle bakteriyel, viral ve fungal sekonder patojenlere bağlı hastalıklar için hazırlayıcı olmaktadır. Sekonder enfeksiyonların varlığında hastalığın tanısı daha da zorlaşmaktadır. CIA hastalığına karşı 6 haftalık yaştan önce uygulanacak bir aşının bulunmaması sebebiyle, civcivlerin hastalıktan korunmasında maternal antikor varlığı önemlidir. Bu amaçla civcivlere koruyucu düzeyde maternal antikor geçişi için damızlıkların yeterli titrede antikora sahip olmaları gereklidir.

Bu tez çalışmasında CIA hastalığına karşı aşıllı ve aşısız farklı yaşlardaki broyler damızlık sürülerinde CAV antikor varlığı, damızlık yaşının damızlık antikor titresini ve civcivlere geçen maternal antikor düzeyini üzerine etkisi, ticari broyler sürülerinde maternal antikor seyri, antikor ve CAV DNA varlığı araştırıldı.

Çalışmada aşıllı ve aşısız 12 broyler damızlık sürüsünün tamamı (% 100) seropozitif belirlenirken, sürülerde seropozitiflik oranının % 95-100 arasında değiştiği belirlendi. Aşıllı damızlıklardan elde edilen serumların (120 adet) % 99.2'si ve aşısız damızlıklardan elde edilen serumların (98 adet) % 100'ü seropozitif saptandı. Aşıllı broyler damızlık sürülerde seropozitiflik beklenen bir sonuçken, aşısız broyler damızlık sürülerde belirlenen seropozitiflik, bu sürülerin hayatlarının bir döneminde CAV ile enfekte olduğunu göstermektedir. Aşısız damızlıkların günlük civcivlerinden elde edilen doku örneklerinde CAV spesifik genlerin belirlenmemesi, bu aşısız damızlıkların örnekleme yapılan dönemden daha önce CAV ile enfekte olduğunu göstermektedir.

Bu araştırmada broyler damızlıklarda CAV antikor varlığını araştırmak için yapılan çalışmalar sonucunda belirlenen seropozitif sürü oranları Yuasa ve ark. (1985), McNulty ve ark. (1988), Goodwin ve ark. (1990), Lucio ve ark. (1990), Dren ve ark. (1996), Zhou ve ark. (1996), Ergün ve ark. (1998), Brentano ve ark. (2000), Canal ve ark. (2004), Türkyılmaz ve Mısırlıoğlu (2004) ile Hadimli ve ark. (2008)'nin belirledikleri seropozitif sürü oranlarıyla uyumlu bulunmuştur. Goodwin ve ark. (1990), Dren ve ark. (1996), Zhou ve ark. (1996), Ergün ve ark. (1998), Canal ve ark. (2004)'nin aşısız damızlık sürülerde belirledikleri serum pozitiflik oranları (% 62-73) ve sürülerdeki seropozitiflik oranları (% 0-100) ise bu çalışmada elde edilen sonuçlardan farklı bulunmuştur. Bu farklılığın seropozitiflik oranları düşük sürülerin CAV ile yeni enfekte olmasıyla ilişkili olabileceği buna bağlı olarak sürüde serokonversiyonun araştırmacıların örnekleme yaptığı dönemde tam oluşmamasından kaynaklandığı dşnld.

Araştırmada aşılı ve aşısız broyler damızlık sürülerinin ortalama antikor titrelerini karşılaştırmak için yapılan çalışmalar sonucunda iki grubun ortalama antikor titreleri ve koruyuculuk düzeyleri arasında istatistiki olarak bir fark olmadığı belirlendi. Bu durum aşılama ve CAV'ın bulaşması sonucu oluşan antikor titreleri arasında bir fark olmadığını göstermiştir. Elde edilen sonuçlar Voss'un (2000) elde ettiği sonuçlarla uyuşurken, Canal ve ark. (2004)'nin aşılı damızlıkların % 99'unun, aşısız damızlıkların % 52'sinin koruyucu antikor titresine sahip olduğunu bildirdikleri çalışma sonuçlarından farklılık göstermiştir. Bu farklılık, konak, etken ve evre gibi pek çok farklılıktan kaynaklanabilir. Araştırmacılar bu durumu saha enfeksiyonunun oluşan antikor düzeyinde çeşitlilik oluşturabileceğini bildirerek açıklamışlardır.

Bu araştırmada damızlık yaşı ile antikor titresini arasındaki ilişkiyi belirlemek için yapılan ELISA alışmaları sonucunda aşılı ve aşısız broyler damızlıkların her ikisinde de en yaşlı damızlık sürülerin en düşük antikor titre ortalamasına sahip olduğu fakat istatistiki olarak gruplar arasındaki farkın önemli olmadığı saptandı. Ayrıca seropozitif belirlenen broyler damızlıklarda CAV antikorlarının 60 haftalıkken bile koruyucu düzeyde olduğu belirlendi. Elde ettiğimiz sonuçlar

damızlık yaşının artmasıyla antikor titresinin azalabileceğini fakat bu azalmanın çok önemli olmadığını göstermiştir. Bu sonuçlar Otaki ve ark. (1991), Hoop (1992), Imai ve ark. (1993), Pages ve ark. (1997), Cardona ve ark. (2000a), Canal ve ark. (2004), ile Owoade ve ark. (2004) 'nın belirledikleri çalışma sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir.

Çalışmada 27 haftalık aşıli broyler damızlıklardan elde edilen civcivlerin % 92'sinin, 54 haftalık aşıli broyler damızlıklardan elde edilen civcivlerin % 66'sının yüksek koruyucu maternal antikor titresine sahip olduğu ve iki grup arasındaki farkın istatistikî olarak önemli olduğu belirlendi. Aşısız broyler damızlıklardan elde edilen civcivlerin maternal antikor titresini arasındaki farkın ise istatistikî olarak önemli olmadığı saptandı. Bu sonuçlar Pages ve ark. (1997)'nin CIA hastalığına karşı 20 haftalıkken aşılınmış bir damızlık sürüden 30, 40, 50 ve 60 haftalık yaşlarda elde edilen günlük civcivlerde CAV maternal antikor titresinin damızlık yaşının artmasıyla azalsa da hastalığa karşı koruyucu düzeyde olduğunu saptadıkları çalışma sonuçlarıyla uyumlu bulundu.

Bu araştırmada aşıli ve aşısız broyler damızlıklardan elde edilen ticari broyler sürülerinde CAV maternal antikor varlığını ve seyri belirlemek için yapılan ELISA çalışmaları sonucunda, günlük ve 1 haftalık sürülerde (% 98 – 100 oranında) koruyucu düzeyde antikor saptandı. İki haftalıktan sonra maternal antikor varlığının hızla azaldığı (% 5 - 60) ve 3 haftalıkken maternal antikorların koruyucu düzeyde olmadığı (% 0 - 15) belirlendi. Bu araştırmada belirlenen maternal antikorların varlığı ve seyri Otaki ve ark. (1992) ve Roussan (2006)'nin çalışma sonuçlarıyla uyumlu bulunurken, Yuasa (1980a), McNulty ve ark. (1988), Pages ve ark. (1997), Kapetanov ve ark. (2003), Sommer ve Cardona (2003)'nin maternal antikor varlığının ve koruyuculuğun 3-4 haftalığa kadar devam edebileceğini bildirdikleri çalışma sonuçlarından farklılık göstermiştir. Bu farklılık araştırmacıların örnekleme yaptıkları damızlıkların antikor titrelerinin yüksek olmasıyla veya kullandıkları test yöntemiyle ilişkili olabilir.

Çalışmada, Marmara bölgesinde bulunan aşıli broyler damızlıklardan elde edilen 4 haftalık 8 ticari broyler sürünün % 62.5'inde (sürülerde seropozitiflik oranı % 5-10 arasında), 5 haftalık 16 ticari broyler sürünün % 93.8'inde (sürülerde seropozitiflik oranı % 5-94 arasında) antikor varlığı ELISA ile tespit edildi. CAV DNA varlığını belirlemek için yapılan PCR sonucunda aşıli damızlıkların ticari broyler sürülerinde günlük, 1 ve 2 haftalıkken CAV DNA'sı belirlenmezken, 3 haftalık 8 ticari broyler sürünün % 25'inde, 4 haftalık 8 ticari broyler sürünün % 37.5'inde, 5 haftalık 16 ticari broyler sürünün % 37.5'inde CAV VP1 ve O3 genleri belirlendi. Bu sonuçların, Türkyılmaz ve Mısırlıoğlu (2004), Yılmaz ve ark. (1999, 2001)'nin Marmara bölgesindeki sürülerde CAV bulaşmasını belirledikleri çalışma sonuçlarıyla uyumlu olduğu belirlendi ve Marmara bölgesinde örnekleme yapılan sürülerin CAV ile enfekte olduğu sonucuna varıldı. Bu bulaşma saha suşlarıyla veya bölgede uygulanan CAV aşısı suşuyla ilişkili olabilir. Bu durumun belirlenmesi için sahadan izole edilen CAV suşlarının tiplendirilmesi ve CAV aşısı suşlarıyla ilişkisinin araştırılması gereklidir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre CAV VP1 ve O3 genlerinin 3 haftalıktan sonra belirlenmesinin maternal antikorların azalmasıyla ilişkili olduğu saptandı. İç Anadolu bölgesindeki aşısız damızlıklardan elde edilen 8 ticari broyler sürüde 3, 4 ve 5 haftalıkken CAV antikorları ve CAV DNA'sı tespit edilmedi. Bu sonuçlara göre İç Anadolu bölgesinde örnekleme yapılan ticari broyler sürülerinin CAV ile enfekte olmadığı sonucuna varıldı.

Bu araştırmada günlük, 1 ve 2 haftalık ticari broyler sürülerinde maternal antikor varlığı belirlenirken, CAV DNA varlığı belirlenmedi. Bu sonuç Yuasa ve ark. (1983), Hoop (1992), Davidson ve ark. (2004) sonuçlarıyla uyumlu bulunurken, Cardona ve ark. (2000a,b), Sommer ve Cardona (2003), Brenteno ve ark. (2004) sonuçlarıyla farklılık göstermiştir. Cardona ve ark. (2000a,b), Sommer ve Cardona (2003), Brenteno ve ark. (2004) aşıli veya aşısız seropozitif damızlıklardan elde edilen günlük, 1 haftalık ve 2 haftalık ticari broyler sürülerinde hem maternal antikor hemde virüs varlığını belirlediklerini bildirmişlerdir. Araştırmacılar bu durumu virüsün özellikle damızlıkların üreme organlarında latent halde bulunmasıyla veya konak hücre genomuna viral DNA'nın entegre olmasıyla açıklamışlardır. Bu bilgiler

Marmara bölgesindeki aşılı damızlıklarda aşı suşunun latent halde bulunmasına bağlı olarak civcivlere CAV'ın geçebileceğini fakat yüksek maternal antikor titresi sebebiyle virüsün çoğalamayacağını, maternal antikor titresin azalmasıyla 3 haftadan itibaren virüsün çoğalmaya başlayabileceğini ve tesbit edilebileceğini düşündürebilir. Fakat İç Anadolu bölgesindeki CAV seropozitif aşısız damızlıkların ticari broyler sürülerinde CAV antikor ve spesifik genlerinin belirlenmemesi ayrıca Cardona ve ark. (2000a,b), Sommer ve Cardona (2003), Brenteno ve ark. (2004)'nın maternal antikor varlığında bile CAV varlığını belirlediklerini bildirmesi bu düşüncüyü desteklemektedir.

Bu araştırmada CAV DNA'sını belirlemek için 32 ticari broyler sürüsünden belirli aralıklarla alınan doku örneklerinden elde edilen 104 doku homojenatında VP1F/VP1R ve O3F/O3R primerleri kullanarak yapılan PCR çalışma sonucunda her iki primerle de elde edilen sonuçların (11 pozitif, 93 negatif) aynı olduğu belirlendi. Bu sonuç Nogueira ve ark. (2005) ve Kumar' ın (2007) bildirdiği sonuçlardan farklı bulunmuştur. Bu farklılık seçilen primerler ve/veya virüs suşuyla ilişkili olabilir.

Yapılan bu tez sonucunda, hem aşılı hemde aşısız broyler damızlık sürülerinde CAV antikorlarının belirlendiği ve uzun süre koruma sağladığı (en az 60 hafta) saptandı. Aşılı ve aşısız broyler damızlık sürülerde antikor titresi arasında önemli bir farkın olmadığı, damızlık yaşının artmasıyla antikor titresinde azda olsa bir düşüşün gözlemlendiği ve buna bağlı olarak civcivlere geçen maternal antikor titresinin de azalabileceği tespit edildi. Civcivlere geçen maternal antikorların 2 haftalığa kadar koruyucu düzeyde olduğu fakat bu korumanın bittiği 3. haftada ticari broyler sürülerinde CAV genlerinin, 4-5. haftada ise hem CAV antikorlarının hem de CAV genlerinin belirlendiği saptandı. Ayrıca tavuklarda CAV DNA varlığını araştırmak için kullanılan VP1 ve O3 gen primerlerinin her ikisinde de aynı sonucun elde edildiği belirlendi.

Elde edilen güncel bilgiler ışığında CIA hastalığından koruma ve kontrol için, damızlıkların yumurtlama döneminden en az 3-4 hafta önce CAV seropozitiflik durumu kontrol edilmelidir. Bu araştırma sonucuna göre maternal antikorların

azalmasına bağlı olarak tavuk sürüleri 3 haftalıktan itibaren CAV ile enfekte olabilir. Bu durumda birçok damızlık sürünün de yumurtlama periyodu öncesi, hatta aşılanmanın yapılacağı 6. haftadan önce seropozitif olacağı dikkate alınmalı ve bu sürülerde aşı uygulaması yapılmamalıdır. Ancak sürülerde yumurtlama periyodundan 3-4 hafta önce seronegatiflik belirlenirse sürüler aşılanarak seropozitiflik sağlanmalıdır. Seropozitif bir sürü uzun bir süre koruyucu antikor titresine sahip olacaktır ve civcivlerine koruyucu düzeyde maternal antikor aktaracaktır.

Tavuk infeksiyöz anemi hastalığının eradikasyonu için virüsle ilgili daha fazla veri sağlanarak, hastalığın kontrol stratejileri geliştirilmelidir. Bu amaçla CIA hastalığında latent ya da herediter bulaşma detaylı olarak incelenmeli ayrıca CAV varlığı belirlenen sürülerden elde edilen CAV suşlarının moleküler tiplendirilmesi için yeni çalışmalar yapılmalı ve bu suşların CAV ticari aşı suşlarıyla ilişkisi araştırılmalıdır.

KAYNAKLAR

- Adair BM (2000) Immunopathogenesis of chicken anemia virus infection. *Dev. Comp. Immunol.*, 24:247—255.
- Adair BM, McNeilly F, McConnell CDG, Todd D, Nelson RT, and McNulty MS (1991) Effects of chicken anemia agent on lymphokine production and lymphocyte transformation in experimentally infected chickens. *Avian Dis.*, 35:783—792.
- Adair BM, McNeilly F, McConnell CDG, and McNulty MS (1993) Characterization of surface markers present on cells infected by chicken anemia virus in experimentally infected chickens. *Avian Dis.*, 37:943—950.
- Akan M (2002) Türkiye’de Kanatlı Endüstrisi, İçinde: Kanatlı Hayvan Hastalıkları, Ed. M. Arda, A. Minbay, N. Aydın, M. İzgür, H. Yardımcı, Ö.M. Esendal, J. Erdeğer ve M. Akan, s.1-4, Medisan Yayınları, Ankara.
- Akay Ö (2002) Tavuk İNFEKSİYÖZ Anemi Hastalığı, İçinde: Kanatlı Hayvan Hastalıkları, Ed. M. Arda, A. Minbay, N. Aydın, M. İzgür, H. Yardımcı, Ö.M. Esendal, J. Erdeğer ve M. Akan, s.213—217, Medisan Yayınları, Ankara.
- Boer GF, Roozelaar DJ, Moorman RJ, Jeurissen SHM, Van Den Wijngaard JC, Hilbink F, and Koch G (1994) Interaction between chicken anaemia virus and live Newcastle disease vaccine. *Avian Pathol.*, 23:263—275.
- Bougiouklis PA, Sofia M, Brellou G, Georgopoulou I, Billinis C and Vlemmas CI (2007) A clinical case of chicken infectious anemia disease and virus DNA detection in naturally infected broylers in Greece. *Avian Dis.*, 51:639—642.
- Brentano L, Silva BG, Sayd S and Flores SW (2000). Antibodies to Chicken Anemia Virus (CAV) in Broiler Breeder Flocks in Brazil. *Revta Bras. Cienc. Avic.* 2:157—179
- Brentano L, Lazzarin S, Bassi SS, Klein TAP, Schat KA (2004) Detection of chicken anemia virus in the gonads and in the progeny of broiler breeder hens with high neutralizing antibody titers. *Vet. Microbiol.*, 105 65—72
- Canal WC, Ferreira DJ, Macagnan M, Fallavena LCB, Moraes HLS and Wald VB (2004) Prevalence of antibodies against chicken anaemia virus (CAV) in broiler breeders in Southern Brazil. *Pesq. Vet. Bras.*, 24(2):89—92.
- Calnek BW, Lucio-Martinez B, Cardona C, Harris RW, Schat KA, and Buscaglia C (2000) Comparative susceptibility of Marek’s disease cell lines to chicken infectious anemia virus. *Avian Dis.*, 44(1):114—124.
- Cardona CJ, Lucio B, O’Connell P, Jagne J, and Schat KA (2000a) Humoral immune responses to chicken infectious anemia virus in three strains of chickens in a closed flock. *Avian Dis.*, 44:661—667.

- Cardona CJ, Oswald WB, and Schat KA (2000b) Distribution of chicken infectious anemia virus in the reproductive tissues of specific pathogen-free chickens. *J. Gen. Virol.*, 81:2067—2075.
- Chandratilleke D, Connell P, and Schat KA (1991) Characterization of proteins of chicken infectious anemia virus with monoclonal antibodies. *Avian Dis.*, 35:854—862.
- Chettle NJ, Eddy RK, Wyeth PJ, and Lister SA (1989) An outbreak of disease due to chicken anaemia agent in broiler chickens in England. *Vet. Rec.*, 124:211—215.
- Classens JAJ, Schrier CC, Mockett APA, Jagt EHJM and Sandermeijer PJA (1991) Molecular cloning and sequence analysis of the genome of chicken anaemia agent. *J. Gen. Virol.*, 72 : 2003—2006.
- Cloud SS, Lillehoj HS, and Rosenberger JK (1992) Immune dysfunction following infection with chicken anemia agent and infectious bursal disease virus. 1. Kinetic alterations of avian lymphocyte subpopulations. *Vet. Immunopathol.*, 34:337—352.
- Çöven F (1989) Türkiye’de yetiştirilen specific pathogen free (SPF) sürülerde Chicken Anemia Agent’in (CAA) araştırılması çalışması. Tarım Orman ve Köy İşleri Bakanlığı. Tavuk Hastalıkları Araştırma ve Aşı Üretim Enstitüsü Projeleri, Manisa.
- Davidson I, Shkoda I, Eklin N, Ayali G, Hamzani E, Kass N, Smith B, Borochovitsh H, Gilat G, Krispin H, Kedem M and Perk S (2004) Chicken infectious anemia in young broiler flocks in Israel. *Israel J. Vet. Med.*, 59 (4): 78—82.
- Douglas AJ, Phenix K, Mawhinney KA, Todd D, Mackie DP, and Curran WL (1995) Identification of a 24 kDa protein expressed by chicken anemia virus. *J. Gen. Vir.*, 76:1557—1562.
- Dren C, Farkas T, and Nemeth I (1996) Serological survey on the prevalence of chicken anaemia virus infection in Hungarian chicken flocks. *Vet. Microbiol.*, 50:7—16.
- Dren CN, Kant A, Van Roozelaar DJ, Hartog L, Noteborn MHM, and Koch G (2000) Studies on the pathogenesis of chicken infectious anemia virus infection in six week old SPF chickens. *Acta. Vet. Hung.*, 48(4):455—467
- Engstrom BE (1988) Blue wing disease of chickens; Isolation of avian reovirus and chicken anaemia agent. *Avian Pathol.*, 17:23—32.
- Ergün A, Yurtman M, Nalbantsoy A (1998) Cıvcıv anemisi hastalığı (CAV) üzerinde ELISA testi ile sero-survey çalışma. *Çiftlik Derg.*, 5(171): 44—46.
- Farkas T, Maeda K, Sugiura H, Kai K, Hirai K, Otsuki K, and Hayashi T (1998) A serological survey of chickens, Japanese quail, pigeons, ducks and crows for antibodies to chicken anemia virus in Japan. *Avian Pathol.*, 27:316—320.
- Gelderblom H, Kling S, Lurz R, Tischer I, and Bülow V (1989) Morphological characterization of chicken anaemia agent (CAA). *Arch. Virol.*, 109:115—120.

- Goodwin MA, Brown J, Smeltzer MA, Crary CK, Girshick T, Mille SL, and Dickson TG (1990) A survey for parvovirus-like virus (so called chicken anemia agent) antibodies in broiler breeders. *Avian Dis.* 34: 704—708.
- Goodwin MA, Smeltzer MA, Brown J, Girschick T, McMurrey BI, and McCarter S (1993) Effect of so called chicken anemia agent maternal antibody on chick serologic conversion to viruses in the field. *Avian Dis.*, 37: 542—545.
- Goryo M, Sugimura H, Matsumoto S, Umemura T, and Itakura C (1985) Isolation of an agent inducing chicken anaemia. *Avian Pathol.*, 14:483—496.
- Goryo M, Shibata Y, Suwa T, Umemura T, and Itakura C (1987) Outbreak of anemia associated with chicken anemia agent in young chicks. *Jpn. J. Vet. Sci.*, 49:867—873.
- Goryo M, Suwa T, Umemura T, Itakura C, and Yamashiro S (1989) Histopathology of chicks inoculated with chicken anaemia agent (MSB1-TK5803 strain). *Avian Pathol.*, 18:73—89.
- Gürel A ve Kuşçu B (2008) Immuno-histopathologic lesions in organs other than the thymus and bone marrow during the course of experimentally-induced Chicken Infectious Anaemia (CIA) disease. *Turk J. Vet. Anim. Sci.*, 32(5): 369—377.
- Hadimli HH, Erganiş O, Güler L, Uçan US (2008) Investigation of Chicken Infectious Anemia Virus Infection by PCR and ELISA in Chicken Flocks. *Turk J. Vet. Anim. Sci.*, 32(1):1—5.
- Hagood LT, Kelly TF, Wright JC and Hoerr FJ (2000) Evaluation of chicken infectious anaemia virus and associated risk factors with disease and production losses in broilers. *Avian Dis.*, 44: 803—808.
- Herdt P, Bosch G, Ducatelle R, Uyttebroek E, and Schrier C (2001) Epidemiology and significance of chicken infectious anemia virus infections in broylers and broyler parents under nonvaccinated European circumstances. *Avian Dis.*, 45:706—708.
- Hoop RK (1992) Persistence and vertical transmission of chicken anemia agent in experimentally infected laying hens. *Avian Pathol.*, 21, 493—501.
- Hoop RK (1993) Transmission of chicken anaemia virus with semen. *Vet. Rec.*, 133:551—552.
- Hoop RK and RL Reece (1991) The use of immunofluorescence and immunoperoxidase staining in studying the pathogenesis of chicken anaemia agent in experimentally infected chickens. *Avian Pathol.*, 20:349—355.
- Hu LB, Lucio B, and Schat KA (1993a) Abrogation of age-related resistance to chicken infectious anemia by embryonal bursectomy. *Avian Dis.*, 37:157—169.

- Hu LB, Lucio B, and Schat KA (1993b) Depletion of CD4+ and CD8+ T lymphocyte subpopulations by CIA-1, a chicken infectious anemia virus. *Avian Dis.*, 37:492—500.
- ICTV (International Committee on Taxonomy of Virus) Erişim: <http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>, erişim tarihi: 2009.
- Iwata N, Fujino M, Tuchiya K, Iwata A, Otaki Y, and Ueda S (1998) Development of an enzyme-linked immunosorbent assay using recombinant chicken anemia virus proteins expressed in a baculovirus vector system. *J. Vet. Med. Sci.*, 60:175—180.
- Imai K, Mase S, Tsukamoto K, Hihara H, Matsumura T, and Yuasa N (1993) A long term observation of antibody status to chicken anaemia virus in individual chickens of breeder flocks. *Res. Vet. Sci.*, 54(3):392—396.
- Jakowski RM, Fredrickson TN, Chomiak TW, and Luginbuhl RE (1970) Hematopoietic destruction in Marek's disease. *Avian. Dis.* 14:374—385.
- Jorgensen PH, Otte L, Nielsen OL, and Bisgaard M (1995) Influence of subclinical virus infections and other factors on broiler flock performance. *Br. Poult. Sci.*, 36:455—463.
- Jeurissen SHM, Wagenaar F, Pol JMA, Van Der Eb AJ, and Noteborn MHM (1992a) Chicken anemia virus causes apoptosis of thymocytes after *in vivo* infection and of cell lines after *in vitro* infection. *J. Virol.*, 66:7383—7388.
- Jeurissen SHM, Janse ME, van Roozelaar DJ, Koch G, and De Boer GF (1992b) Susceptibility of thymocytes for infection by chicken anemia virus is related to pre- and posthatching development. *Dev. Immunol.*, 2(2):123—129.
- Kapetanov M, Orlic D, Velhner M, Kosarcic S and Lazic S (2003) Clinical and serological examination of a parental flock latently infected with chicken anemia virus. *Acta Vet. (Beograd)*, 53 (4), 239—248.
- Kato A, Fujino M, Nakamura T, Ishihama A and Otaki Y (1995) Gene organization of chicken anemia virus. *Virology*, 209: 480—488.
- Koch G, Van Roozelaar DJ, Verschueren CAJ, Van Der Eb AJ and Noteborn MHM (1995) Immunogenic and protective properties of chicken anaemia virus proteins expressed by baculovirus. *Vaccine*, 13(8):763—770.
- Kuyucuoğlu Y, Hadimli HH, Kenar B, Uçan S (2003) Afyon bölgesindeki yumurtacı tavuklarda Chicken Infectious Anemia antikorlarının ELISA testi ile gösterilmesi. *Vet. Hek. Mik. Derg.*, 3: 21—25.
- Kumar A (2007) Detection and molecular characterization of chicken infectious anaemia virus from poultry. Master of Veterinary Science, Veterinary Microbiology of Anand Agricultural University.

- Lamichhane CM, Snyder DB, Goodwin MA, Mengel SA, Brown J, and Dickson TG (1991) Pathogenicity of CL-1 chicken anemia agent. *Avian Dis.*, 35:515—522.
- Lucio B, Schat KA and Shivaprasad HL (1990) Identification of the Chicken anaemia agent, reproduction of disease, and serological survey in the United States. *Avian Dis.*, 34:146—153
- Malo A and Weingarten M (1995) Determination of the minimum protective neutralizing antibody titre to CAV in adult chickens. Intervet, VSD Newsletter, November No:11,1-5.
- Mahzounieh M, Karimi I and Salehi TZ (2005) Serologic evidence of chicken infectious anemia in commercial chicken flocks in Shahrekord, Iran *Int. J. Poul. Sci* 4 (7):500—503.
- McConnell CDG, Adair BM, and McNulty MS (1993a) Effects of chicken anemia virus on macrophage function in chickens. *Avian Dis.*, 37:358—365.
- McConnell CDG, Adair BM, and McNulty MS (1993b) Effects of chicken anemia virus on cell-mediated immune function in chickens exposed to the virus by a natural route. *Avian Dis.*, 37(2):366—374.
- McIlroy SG, McNulty MS, Bruce DW, Smyth JA, Goodall EA, and Alcorn MJ (1992) Economic effects of clinical chicken anemia agent infection on profitable broiler production. *Avian Dis.*, 36:566—574.
- McNulty MS (1991) Chicken anaemia agent: A review. *Avian Pathol.* 20:187—203.
- McNulty MS, Connor TJ, and McNeilly F, Kirkpatrick KS, and McFerran JB (1988) A serological survey of domestic poultry in the United Kingdom for antibody to chicken anaemia agent. *Avian Pathol.*, 17:315—324.
- McNulty MS, Connor TJ, and McNeilly F (1990a) Influence of virus dose on experimental anaemia due to chicken anaemia agent. *Avian Pathol.*, 19:167—171.
- McNulty MS, Curran WL, Todd D, and Mackie DP (1990b) Chicken anemia agent: An electron microscopic study. *Avian Dis.*, 34(3):736—743.
- Meehan BM, Todd D, Creelan JL, Earle JAP, Hoey EM, and McNulty MS (1992) Characterization of viral DNAs from cells infected with chicken anaemia agent: Sequence analysis of the cloned replicative form and transfection capabilities of cloned genome fragments. *Arch Virol.*, 124:301—319.
- Miller MM, Jarosinski KJ and Schat KA (2005) Positive and negative regulation of chicken anemia virus transcription. *J. Virol.* 79:2859—2868.
- Nogueira EO, Brentano L, Ferreira AJP (2005) A VP3/VP1 gene polymerase chain reaction assay for detection of chicken anemia virus in broiler samples. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 57(2),131-140.

- Noteborn MHM, De Boer GF, Van Roozelaar DJ, Karreman C, Kranenburg O, Vos JG, Jeurissen SHM, Hoeben RC, Zantema A, Koch G, Van Ormondt H, and Van Der Eb AJ (1991) Characterization of cloned chicken anemia virus DNA that contains all elements for the infectious replication cycle. *J. Virol.*, 65:3131—3139.
- Noteborn MHM, Kranenburg O, Zantema A, Koch G, De Boer GF, and Van Der Eb AJ (1992) Transcription of the chicken anemia virus (CAV) genome and synthesis of its 52-kDa protein. *Gene*, 118(2):267—271.
- Noteborn MHM, Todd D, Verschueren CAJ, De Gauw HWFM, Curran WL, Veldkamp S, Douglas AJ, McNulty MS, Van Der Eb AJ, and Koch G (1994) A single chicken anemia virus protein induces apoptosis. *J. Virol.*, 68:346—351.
- Noteborn MHM and Koch G (1995) Chicken anaemia virus infection: Molecular basis of pathogenicity. *Avian Pathol.*, 24(1):11—31.
- Noteborn MHM, Verschueren CAJ, Koch G, and Van Der Eb AJ (1998) Simultaneous expression of recombinant baculovirus-encoded chicken anemia virus (CAV) proteins VP1 and VP2 is required for formation of the CAV-specific neutralizing epitope. *J. Gen. Virol.*, 79:3073—3077.
- Otaki Y, Saito K., Tajima M and Nomura Y (1991) Detection of antibody to chicken anaemia agent: a comparison of three serological tests. *Avian Pathol.*, (1991) 20, 315—324.
- Otaki Y, Saito K, Tajima M, Nomura Y (1992) Persistence of maternal antibody to chicken anemia agent and its effect on the susceptibility of young chickens. *Avian Pathol.*, 21, 147—151.
- Owoade AA, Oluwayelu DO, Fagbohun OA, Ammerlaan W, Mulders MN, Muller CP (2004) Serologic evidence of chicken infectious anemia in commercial chicken flocks in southwest Nigeria. *Avian Dis.*, 48(1):202—205
- Pages A, Saubi N, Artigas C, and Espuna E (1997) Experimental evaluation of an inactivated vaccine against chicken anaemia virus. *Avian Pathol.*, 26:721—729.
- Phenix KV, Meehan BM, Todd D, McNulty MS (1994) Transcriptional analysis and genome expression of chicken anemia virus. *J. Gen. Virol.*, 75: 905—909.
- Pope CR (1991) Chicken anemia agent. *Vet. Immunol Immunopathol.* 30(1):51—65.
- Rosenberger JK and Cloud SS (1989a) The isolation and characterization of chicken anemia agent (CAA) from broilers in the United States. *Avian Dis.*, 33(4):707—713.
- Rosenberger JK and Cloud SS (1989b) The effects of age, route of exposure, and coinfection with infectious bursal disease virus on the pathogenicity and transmissibility of chicken anemia agent (CAA). *Avian Dis.*, 33:753—759.

- Rosenberger JK and Cloud SS (1998) Chicken Anemia Virus. *Poul. Sci.*, 77:1190—1192.
- Roussan AD (2006) Serological Survey on the Prevalence of Chicken Infectious Anemia Virus in Commercial Broiler Chicken Flocks in Northern Jordan. *Int.J. Poul. Sci.*, 5 (6):544—546.
- Schat KA (2003) Circovirus infections, chicken infectious anemia. In: Diseases of poultry, Eds. Y. M. Saif, H. J. Barnes, A. M. Fadly, J. R. Glisson, L. R. McDougald, and D. E. Swayne, 11th ed, Iowa State University Press, Ames, IA. pp. 182—202.
- Smyth JA, Moffett DA, McNulty MS, Todd D, and Mackie DP (1993) A sequential histopathologic and immunocytochemical study of chicken anemia virus infection at one day of age. *Avian Dis.*, 37:324—338.
- Sommer F and Cardona C (2003) Chicken Anemia Virus in Broilers: Dynamics of the Infection in Two Commercial Broiler Flocks. *Avian Dis.*, 47:1466—1473.
- Taniguchi T, Yuasa N, Maeda M, and Horiuchi T (1983) Chronological observations on hemato-pathological changes in chicks inoculated with chicken anemia agent. *Natl. Inst. Anim. Health, Q* (Tokyo) 23(1):1-12.
- Todd D (2000) Circoviruses: Immunosuppressive threats to avian species. A review, *Avian Pathol.*, 29:373—394.
- Todd D, Creelan JE, Mackie DP, Rixon F and McNulty MS (1990a) Purification and biochemical characterization of chicken anaemia agent. *J. Gen. Virol.*, 71, 819-823.
- Todd D, Mackie DP, Mawhinney KA, Connor TJ, McNeilly F, and McNulty MS (1990b) Development of an enzyme-linked immunosorbent assay to detect serum antibody to chicken anemia agent. *Avian Dis.*, 34(2):359—363.
- Todd D, Mawhinney KA, and McNulty MS (1992) Detection and differentiation of chicken anemia virus isolates by using the polymerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol.*, 30:1661—1666.
- Todd D, Connor TJ, Calvert VM, Creelan JL, Meehan BM, and McNulty MS (1995) Molecular cloning of an attenuated chicken anaemia virus isolate following repeated cell culture passage. *Avian Pathol.* 24(1):171—187.
- Todd D, Mawhinney KA, Graham DA, and Scott AN (1999) Development of a blocking enzyme-linked immunosorbent assay for the serological diagnosis of chicken anaemia virus. *J. Virol. Methods*, 82(2):177—184.
- Toro H, Ramirez AM, and Larenas J (1997) Pathogenicity of chicken anaemia virus (isolate 10343) for young and older chickens. *Avian Pathol.*, 26:485—499.
- Türkyılmaz S, Mısırlıoğlu OZ (2004) İzmir ve Bandırma yörelerinde chicken infectious anemia virus antikorlarının ELISA ile saptanması. *Pendik Vet. Mikrobiol. Derg.*, 35: 13-19.

- Urlings HAP, Boer GF, Roozelaar DJ, Koch G (1993) Inactivation of chicken anaemia virus in chickens by heating and fermentation. *Vet. Q.*, 15:85—88.
- Van Santen VL, Joiner KS, Murray C, Petrenko N, Hoerr FJ, and Toro H (2004) Pathogenesis of Chicken Anemia Virus: Comparison of the Oral and the Intramuscular Routes of Infection. *Avian Dis.*, 48(3):494—504.
- Vielitz E and Landgraf H (1988) Anaemia-dermatitis of broilers: Field observations on its occurrence, transmission and prevention. *Avian Pathol.*, 17:113—120.
- Voss M (2000) Infectious anemia in chickens - Prevention by a live attenuated vaccine Lohmann Animal Health, Cuxhaven, Germany
- Vinodbhai VK (2005) Etio-immuno-pathological studies on chicken infectious anemia gangrenous dermatitis syndrome in pullets. Master Thesis, Department of Pathology College of Veterinary Science and Animal Husbandry Anand Agricultural University
- Yamaguchi S, Imada T, Kaji N, Mase M, Tsukamoto K, Tanimura and Yuasa N (2001) Identification of a genetic determinant of pathogenic in chicken anemia virus. *J. Gen.Virol.*, 82:1233—1238.
- Yılmaz H, Özgür NY, Turan N, Akay Ö (1999) Tavuk anemi virusunun polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile saptanması. VIV Uluslararası Tavukçuluk Fuarı, Yutav 99, İstanbul, 555—561.
- Yılmaz H, Turan N, Özgür NY, Helps CR, Akay Ö (2001) Detection of chicken anemia virus DNA in the thymus of naturally infected chicks in Turkey. *Avian Dis.*, 45: 529—533.
- Yuasa N (1992) Effect of chemicals on the infectivity of chicken anaemia virus. *Avian Pathol.*, 21(2):315—319.
- Yuasa N, Taniguchi T, and Yoshida I (1979) Isolation and some characteristics of an agent inducing anemia in chicks. *Avian Dis.*, 23:366—385.
- Yuasa N, Noguchi T, Furuta K, and Yoshida I (1980a) Maternal antibody and its effect on the susceptibility of chicks to chicken anemia agent. *Avian Dis.*, 24:197—201.
- Yuasa N, Taniguchi T, Noguchi T, and Yoshida I (1980b) Effect of infectious bursal disease virus infection on incidence of anemia by chicken anemia agent. *Avian Dis.*, 24:202—209.
- Yuasa N, Taniguchi T, Imada T, and Hihara H (1983) Distribution of chicken anemia agent (CAA) and detection of neutralizing antibody in chicks experimentally inoculated with CAA. *Natl. Inst. Anim. Health, Q (Jpn)* 23(3):78—81.
- Yuasa N, Imai K, and Tezuka H (1985) Survey of antibody against chicken anaemia agent (CAA) by an indirect immunofluorescent antibody technique in breeder flocks in Japan. *Avian Pathol.*, 14:521—530.

- Yuasa N and Imai K (1986) Pathogenicity and antigenicity of eleven isolates of chicken anaemia agent (CAA). *Avian Pathol.*, 15:639—645.
- Yuasa N, Imai K, Watanabe K, Saito F, Abe M and Komi K (1987) Aetiological examinations of an outbreak of haemorrhagic syndrome in a broiler flock in Japan. *Avian Pathol.*, 16, 521—526.
- Yuasa N, Imai K, and Nakamura K (1988) Pathogenicity of chicken anaemia agent in bursectomised chickens. *Avian Pathol.*, 17:363—369.
- Zhou W, Yang B, Shen B, Han S and Zhou J (1996) A serologic survey of antibody against chicken infectious anemia virus by indirect immunofluorescent assay in domestic poultry in China. *Avian Dis.*, 40:358—360

ÖZGEÇMİŞ

Adı: ŞİNASI

Soyadı: AŞKAR

Doğum yeri ve tarihi: Adana, 1978

Uyruğu: Türkiye Cumhuriyeti

Medeni durumu: Evli

İletişim adresi ve telefonu: Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji
Anabilim Dalı 71451 Yahşihan/ Kırıkkale. Tel: 0 (318) 357 33 01

Eğitim

Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi	2002
Özel İçel Lisesi	1995

Meslek deneyimi

Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Araş. Gör.	2004
--	------

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti

Veteriner Hekimleri Mikrobiyoloji Derneği

Bilimsel Etkinlikler

A. Projeler

- Yağcı B.B., Yıldırım M., **Aşkar Ş.**, “Ticari Broyler Sürülerinde Tavuk İnfeksiyöz Anemi Virüs’ünün PCR ile Teşhisi”, K.Ü.BAP 2008/52. Araştırmacı
- Ünal N., **Aşkar Ş.**, Yıldırım M., Macun C. Koyun orijinli *Staphylococcus aureus* İzolatlarının Enterotoksijenik Özellikleri ve Direnç Profillerinin Belirlenmesi, BAB 2008/51, Araştırmacı.

- Kasımoğlu Doğru A, Doğru M.T., İstanbulluoğlu E., Yıldırım M., Ünal N., **Aşkar Ş.** “Kırıkkale İlinde İnsan, Sığır ve Koyunda *Coxiella burnetii* Seroprevalansının Belirlenmesi”, 2008/46. Araştırmacı
- Azkur A. K., Ünal N., Gazyağcı S., **Aşkar Ş.** “Kırıkkale İli Koyun Sürülerinde Border Hastalığının Prevalansının Belirlenmesi”, TUBİTAK 108O864. Bursiyer,
- Yaman S., Yıldırım M., **Aşkar Ş.** “Balya silajı tekniğinin geliştirilmesi” TUBİTAK 105G086, Araştırmacı,
- Yıldırım M., **Aşkar Ş.** Çınar M., Öcal N., Yağcı B.B. “Dermatofitozisli Sığırlardan Dermatofitlerin İzolasyonu, Bazı Biyokimyasal Parametreler, Lipid Peroksidasyonu ve Antioksidan Sistemin Araştırılması”, BAB 2007/22, Araştırmacı.
- Yıldırım M., **Aşkar Ş.** “Broyler ve Yumurtacı Tavuklarda Tavuk İnfeksiyöz Anemi Virüs Antikor Varlığı ile Cıvcıvlerin Maternal Antikor Varlığı Arasındaki İlişkinin Araştırılması”, BAB 2007/1, Araştırmacı.

B.Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitabında Basılan Bildiriler

- Yıldırım M., **Aşkar Ş.**, Çınar M., Öcal N., Yağcı B.B. “Dermatofitozisli Sığırlardan Dermatofitlerin İzolasyonu”, VIII. Ulusal Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi (Uluslararası katılımlı) 07–09 Ekim 2008 Van, Türkiye
- Ünal N, İstanbulluoğlu E, Yıldırım M, **Aşkar Ş.** “Bakteriyel Zoonozların Yayılmasında Karasineklerin (*Musca domestica*) Vektör Rolünün Araştırılması”. VII. Ulusal (Uluslararası katılımlı) Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi, 26-28 Eylül 2006, Side-Antalya.

C. Seminerler

- AŞKAR, Ş. “Bakteriyel Feromonlar”. Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Sağlık Bilimleri, Seminer, Kırıkkale 2007
- AŞKAR, Ş. “Güncel Bilgiler Işığında Avian Influenza”. Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Sağlık Bilimleri, Seminer, Kırıkkale 2006

D. Diğer Bilimsel Etkinlikler:

- Kırıkkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Mikrobiyoloji Erasmus Koordinatörlüğü, (2009 -).
- Türk Veteriner Hekimleri Mikrobiyoloji Derneği Yönetim Kurulu Muhasip Üyeliği, (2007 -).