

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

**KANATLI KAN SERUMLARINDA AVIAN
RHINOTRACHEİTİS VIRUS (ART) ANTİKORLARININ
ELİSA İLE BELİRLENMESİ**

ESİN DURAK
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Serap SAVAŞAN

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
VTF-18004 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2019

KABUL ve ONAY SAYFASI

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Tezli Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Esin DURAK tarafından hazırlanan “Kanatlı Kan Serumlarında Avian Rhinotracheitis Virus (Art) Antikorlarının ELISA İle Belirlenmesi” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 09/08/2019

Üye	: Prof. Dr. Şükrü KIRKAN	Aydın Adnan Menderes Üniv.	
Üye (T.D.)	: Prof. Dr. Serap SAVAŞAN	Aydın Adnan Menderes Üniv.	
Üye	: Dr. Öğr. Üy. Fulya OCAK	Manisa Celal Bayar Üniv.	

ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsününtarih vesayılı oturumunda alınannolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Cavit KUM
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamda; öncelikle daima yanımda olan yardım ve desteklerini esirgemeyen danışmanım Prof. Dr. Serap SAVAŞAN'a, çalışmam esnasında katkılarını gördüğüm Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı tüm değerli öğretim üyelerine, araştırma laboratuvarlarında destek olan Arş. Gör. Tuğba YÜKSEL'e, destek olan tüm çalışma arkadaşlarıma, ayrıca manevi varlıklarını her zaman yanımda hissettiğim beni daima destekleyen babam Osman ZENGİ, annem Ümmühan ZENGİ, ablam Elif ZENGİ CORGA ve eşim Harun DURAK'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.



İÇİNDEKİLER

KABULve ONAY SAYFASI	i
TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
RESİMLER DİZİNİ.....	vii
TABLOLAR DİZİNİ	viii
ÖZET.....	ix
ABSTRACT.....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Tarihçe	3
2.2. Etiyoloji.....	3
2.3. Epizootiyoloji	4
2.4. Semptomlar.....	5
2.5. Teşhis.....	6
2.6. Tedavi, Koruma ve Kontrol, Aşılama.....	9
3.GEREÇ ve YÖNTEM.....	10
3.1. Gereç.....	10
3.1.1.Kan Örnekleri.....	10
3.1.2. Örneklerin Alınması.....	10
3.1.3. ELISA.....	10
3.1.3.1. ELISA teçhizatı.....	10
3.2. Yöntem.....	10
3.2.1. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Kiti ve Test Prensibi.....	10
3.2.1.1. ELISA kiti içeriği.....	12
3.2.1.2. Testin yapılışı.....	12
3.2.1.3. Sonuçların değerlendirilmesi.....	13
4. BULGULAR.....	15
4.1. Örnekler.....	15
4.2. Serolojik Bulgular.....	15
5.TARTIŞMA.....	17

6.SONUÇ ve ÖNERİLER.....	19
KAYNAKLAR.....	20
ÖZGEÇMİŞ.....	25



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

APV	: Avian Pneumovirus
ART	: Avian Rhinotracheitis
Cc	: Cubic centimetre(s)
CEF	: Yumurta ve civciv embriyo fibroblast hücre
ELISA	: Enzyme Linked Immunosorbent Assay
F;F1,F2	: Füzyon protein
G	: Yüzey Glikoprotein
IBV	: İnfeksiyöz Bronşitis Hastalığı
IF	: İmmunofloresan
IIF	:İndirekt İmmunofloresan
IgM	: İmmünglobulin M
IP	: İmmuno peroksidaz
L	: Viral RNA ilişkili RNA polimeraz
M	: Matriks protein
MI	: Mililitre
M2-22K	: İkincil Matriks Protein
NDV	: Newcastle Disease (Yalancı Tavuk Vebası Hastalığı)
Nm	: Nano metre
N	: Nükleoprotein
P	: Fosfoprotein
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
pNPP	: p-NitrophenylPhosphat
RNA	: Ribo Nükleik asit
Rpm	: Revolutions Per Minute (Dakikadaki devir sayısı)
RT-PCR	: Ters Transkriptaz- Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SH	: Küçük hisrofobik protein
SHS	: Swollen Head Syndrome(Şişkin Baş Sendromu)
SN	: Serum Nötralizasyon
TRT	: Turkey Rhinotracheitis
TRTV	: Turkey Rhinotracheitis Virus
QT-35	: Quail Tumor-35

W/v : Ağırlık/hacim
°C : Santigrat derece
μl : Mikrolitre



RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Paramyxovirusların şematik görünüşü.....	1
Resim 2. Elektron mikroskopta Paramyxo virion (Balık kılçığı görünümü).....	1
Resim 3. Şişkin baş sendromu.....	5
Resim 4. Sinirsel Semptomlar (Opisthotonus, Tortikollis).....	6
Resim 5. Farklı Çeşitlerde ELISA Protokollerine Örnekler; A) İndirekt ELISA B) Sandviç ELISA C) Kompetitif ELISA.....	8
Resim 6. ELISA Protokolü.....	11

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Paramyxovirüslerdeki virion proteinleri ve bunların fonksiyonları.....	4
Tablo 2. Aydın ili broyler çiftlikleri ART ELISA test sonuçları.....	15
Tablo 3. İzmir ili broyler çiftlikleri ART ELISA test sonuçları.....	16
Tablo 4. Manisa ili broyler çiftlikleri ART ELISA test sonuçları.....	16
Tablo 5. İllere göre ve toplam ART ELISA test sonuçları.....	16



ÖZET

KANATLI KAN SERUMLARINDA AVİAN RHİNOTRACHEİTİS VİRUS (ART) ANTİKORLARININ ELISA İLE BELİRLENMESİ

Durak E. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Programı Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2019.

Avian Rhinotracheitis Virus, kanatlılarda üst solunum yollarını etkilemektedir. Broyler damızlıklarda ise solunum yolları ile birlikte sinirsel semptomlar ile yumurta veriminde düşüklük gözlenmektedir. Klinik tablonun ortaya çıkışında sekonder patojenlerin ve yetiştirme koşullarının önemli rolü bulunmaktadır. Enfeksiyonun tanısında serolojik yöntemler önem taşımaktadır. Özellikle ELISA bu amaçla kullanılmaktadır.

Bu çalışmada, Aydın, İzmir ve Manisa illerindeki Ticari Broyler yetiştirilen kümeslerde, solunum yollarında hastalığa ve yüksek verim kayıplarına neden olabilen *Avian Rhinotracheitis* virusunun neden olduğu hastalığın serolojik prevalansının saptanması amaçlanmıştır. Örneklemde Aydın'da 9 farklı kümeden 178, İzmir'de 11 farklı kümeden 215, Manisa'da 8 farklı kümeden 159 adet olmak üzere toplam 28 farklı kümeden 552 adet kan örneği kullanılmıştır. Her üç ilin toplamında tüm numunelere göre bir değerlendirme yapıldığında ise araştırmada işlenen toplam 552 adet kan serumunun ELISA testi ile ART yönünden değerlendirmesinde pozitiflik oranı % 73,91 (408 pozitif – 144 negatif) olarak tespit edilmiştir. Aydın ilindeki pozitiflik oranı %69,66 , İzmir ilindeki pozitiflik oranı % 80,93, Manisa ilindeki pozitiflik oranı ise %69,18 olarak tespit edilmiştir.

Çalışma sonuçları değerlendirildiğinde her üç ilde de pozitiflik oranları da oldukça yüksek bulunmuştur. Bu nedenle hastalıkla ilgili daha fazla çalışmaların yapılması gerekliliği ortaya çıkmaktadır. Hastalıkla mücadele açısından daha ayrıntılı çalışmaların yapılması yararlı olacaktır.

Anahtar kelimeler: Avian Rhinotracheitis Virus, ELISA, Kanatlı

ABSTRACT

THE DETERMINATION OF AVIAN RHINOTRACHEITIS VIRUS (ART) ANTIBODIES IN POULTRY BLOOD SERA WITH ELISA

DURAK E. Aydın Adnan Menderes University of Health Sciences Microbiology Program, Master's Thesis, Aydın, 2019.

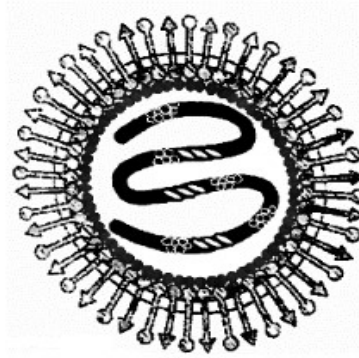
Avian rhinotracheitis virus affects the upper respiratory tract in poultry. In broiler breeders it is observed that there is a decrease in the egg production with neural symptoms along with the respiratory tract. Secondary pathogens and growing conditions play an important role in the appearance of the clinical picture. Serological methods are important in the diagnosis of infection. Especially ELISA is used for this purpose. The aim of this study is to determine the serological prevalence of Avian Rhinotracheitis virus which can cause respiratory diseases and high yield losses in Commercial Broiler coops in Aydın, İzmir and Manisa provinces. In the samplingi totally 552 blood samples from 28 different coops, 178 from 9 different coops in Aydın, 215 from 11 different coops in İzmir and 159 from 8 different coops were used. When an evaluation was made according to all sample in the total of all three provinces, the positivity rate in the ART evaluation of 552 blood sera processed in the study was found to be 73,91% (408 positive-144negative).

The positivity rate in Aydın province was 69,66%, the positivity rate in İzmir province was 80,93% and the positivity rate in Manisa province was 69,18%. When the results of the study were evaluated, the positivity rates in all three provinces were found to be quite high. Therefore, it is necessary that more studies about the disease should be done. More detailed studies will be useful in terms of struggling with the disease.

Keywords: Avian Rhinotracheitis Virus, ELISA, Poultry

1. GİRİŞ

Avian Rhinotracheitis (ART), başlangıçta Turkey Rhinotracheitis (TRT) olarak adlandırıldı ancak artık daha çok Avian Pneumovirus (APV) enfeksiyonu olarak değiştirilmiştir (Pattison, 1998). Avian Pneumovirus, Paramyxoviridae familyası, Pneumovirinae alt familyası, Metapneumovirus genusunda klasifiye edilmektedir (Pringle, 1999). Virus tek iplikçikli ribonükleik asit (RNA) kapsar, zarflıdır, negatif ve helikal simetri gösterir (Resim 1) (Collins ve ark, 1986). Elektron mikroskopisinde, pleomorfiktir ve uzun filamentler oluşturur, bazen de küresel olduğu gözlenmektedir (Resim 2). Ortalama büyüklüğü 100-200 nm'dir (Danı ve ark, 1999).



Resim 1. Paramyxovirusların şematik görünüşü
Fenner ve ark (1999)'dan modifiye edilmiştir.



Resim 2. Elektron mikroskopta Paramyxovirion (Balık kılçığı görünümü)
Fenner ve ark (1999)'dan modifiye edilmiştir.

Etken ayrıca broyler ve broyler damızlık yönlü yetiştirilen tavuklarda Swollen Head Syndrome (SHS) olarak bilinen hastalık tablosunun da etiyolojisi içinde ele alınmaktadır. Yapılan çalışmalar etkenin primer olarak üst solunum yollarında lezyonlara neden olduğunu

ve konakçıyı sekonder bakteriyel ve viral enfeksiyonlara karşı duyarlı hale getirdiğini, fırsatçıların katılımı ile de Swollen Head Syndrome (Şişkin Baş Sendromu) tablosunun şekillendiğini göstermektedir (Gough ve ark,1994).

Araştırmamızda Aydın ve civarı illerdeki ticari tavuk yetiştirilen kümeslerde, solunum yollarında enfeksiyonlara ve yüksek verim kayıplarına yol açan *Avian Rhinotracheitis* virusunun neden olduğu hastalığın serolojik dağılımın saptanması hedeflenmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Tavuklarda görülen Swollen Head Syndrome, 1971-1972 yıllarında Güney Afrika'da gözlenmiştir. Ancak 1974 yılına kadar Newcastle Disease ile ilişkili sekonder bir patojen olduğu, 1979 yılına kadar ise yetiştirme ile ilişkili bir problem olduğu düşünülmüştür (Morley ve Thomson, 1984).

Avian Pneumovirus, ilk olarak 1978 yıllarında Güney Afrika'daki salgında hindilerden izole edilmiştir (Lister ve ark, 1986). Daha sonra İngiltere, Fransa, İtalya, İsrail, Belçika, Japonya, Macaristan, Brezilya, İspanya, Hollanda, Amerika gibi birçok ülkede hindi ve tavuklardan izole edilmiştir (Chiang ve ark, 2000).

Daha sonra 1985 yılında Fransa ile İngiltere'de Swollen Head Syndrome ile Rhinotracheitis Virus aynı dönemde rapor edilmiş ve bu iki hastalık arasında ilişki olabileceği düşünülmüştür (Wyeth , 1990).

İngiltere ile Fransa'da 1985 yılındaki salgınlardan sonra etken tanımlanmıştır (Jones ve ark, 1986).

2.2. Etiyoloji

Avian Pneumovirus, Paramyxoviridae familyası, Pneumovirinae alt familyası, Metapneumovirus genusunda klasifiye edilmektedir (Pringle, 1996). Doğal konakçıları kanatlılardır. İnsanlarda ve diğer hayvanlarda doğal veya deneysel yolla enfeksiyon bildirilmemiştir (Naylor ve Jones, 1993).

Hindi ve tavuk orijinli Rhinotracheitis Virus, bu türlere replike olmakta ve serolojik yanıt oluşturmaktadır (Majo ve ark, 1996). Ancak bu iki izolatlar arasında in vivo biyolojik farklılık oluşabileceğini ve farklılığın virüs alt tipi ile ilgisinin olmadığını bildirmektedir (Catelli ve ark, 1998). Cook ve arkadaşları ise iki izolatın iki türde de enfeksiyona neden olduğunu, antikor yanıtı uyardığını ve ancak orijin aldıkları türün trachea epitelyumunda lezyonlara neden olduğu bildirilmiştir (Cook ve ark, 1993). Doğal ve deneysel enfeksiyon sülün, keklik, beç tavuğunda bildirilmiştir (Jing ve ark, 1993). Kaz, güvercin, ördeklerde deneysel enfeksiyonlarda serolojik yanıt meydana gelmediği bildirilmiştir (Gough ve ark, 1988).

Rhinotracheitis virüs nükleoprotein (N), fosfoprotein (P), matriks protein (M), küçük hidrofobik protein (SH), yüzey glikoprotein (G), füzyon protein (F;F1,F2), ikincil matiks protein (M2-22K), viral RNA ilişkili RNA polimeraz (L) virion proteinlerine sahiptir (Tablo 1). Viral replikasyon stoplazmada gerçekleşir. Virionlar büyük peplomerlerle çevrili ve ısıya karşı oldukça duyarlıdırlar (Seal ve ark, 2000).

Tablo 1. Paramyxoviruslardaki virion proteinleri ve bunların fonksiyonları

Pneumovirus	Fonksiyonları
G	Hücrete tutunma,Hemaglutinin aktivitesi yoktur, İmmune uyarım
F	Hücreye füzyon,Hücreler arası yayılma,İmmune uyarım
N	Nükleoprotein, RNA genom uyarımı
L,P	Transcriptase, RNA genom transkripsiyon
M	Matrix protein,

Fenner ve ark (1999)'dan modifiye edilmiştir.

Virus, F proteinleri ile hücre füzyonuna sahip olsa da hemaglutinasyon aktivitesine sahip değildir. Virusta antijenik determinantların çoğu G yüzey glikoproteinlerinde bulunur ve nöraminidaz aktivitesine sahip değildirler (Seal ve ark, 2000).

Virus konakçı dışında uzun süre canlılık özelliği gösteremez (Jones ,1996). 50°C'de 6 saatte ve 37°C'de 72 saatte tamamen canlılığını yitirir. 20°C'de 4 haftadan fazla yaşayamazken -20 ve -70°C'de 58 hafta canlılığını korur. Ayrıca -20°C'de 6 haftaya kadar infektivite özelliğini korur (Hafez , 1993).

2.3. Epizootiyoloji

Virusun yayılma şekli tam olarak aydınlatılamamıştır. Virus 1971-1972 yıllarında Güney Afrika'da ilk kez bildirildiğinde yabani kuşların doğal patojeni olduğu düşünülmüştür. Başka ülkelerde de gözlenmesi üzerine yayılımda göçmen kuşların etkili olabileceği görüşüne varılmıştır (Jones , 1996).

Virusun gözlenmesi ile hastalığın bir hafta gibi kısa süreler içerisinde ülkelerin diğer bölgelerine hızla yayılması ile mekanik taşıyıcılığın ve hava yolunun yayılımda etkili olabileceğinden şüphe edilmiştir (Naylor ve Jones, 1993). Ancak bunun üzerine Cook ve arkadaşları çalışmalarında ayrı odalarda tuttıkları infekte palazlardan infekte olmayan palazlara hava akımı olmasına rağmen bulaş şekillenmemiştir (Cook ve ark,1991). Giraud ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda horizontal bulaşmanın mümkün olduğunu rapor etmiş,

dolayısıyla da temasın bulaşmada önemli olduğunu kanıtlamışlardır (Giraud ve ark, 1986). Ergin hayvanlarda bulaşmada çiftleşmenin de etkili olduğu bildirilmiş ancak bu konuda yapılan çalışmalar yeterli değildir (Cook ve ark,1991).

Virusun solunum yollarından fazlaca bulunması, bağırsaklarda hiç bulunmaması ya da az miktarda bulunması ile virusun aerosol yolla yayılımının şekillendirildiği bildirilmiştir (Cook ve ark,1991).

2.4. Semptomlar

Her yaştaki tavuklar virüs tarafından infekte olabilirler. Genel olarak broylerlerde 4-6 haftalık, damızlık broylerlerde 24-52 haftalık dönemlerde daha çokta yumurta veriminin pik yaptığı 30. haftada görülmektedir (Pattison ve ark, 1989). Ancak daha erken yaşlarda da görülmüştür (Otsuki ve ark, 1996).

Broylerlerde hastalık tablosu hapşırma, aksırık ile başlar ve 24 saat içinde gözlerde konjunktivitis şekillenir. Bunu takiden periorbital boşluktan, başa, submandibular bölgeye, sakala kadar subkutan ödematöz şişkinlik (Resim 3) ,öksürük, nasal akıntı, kulak akıntısı hareketsizlik, durgunluk infraorbital sinüslerde şişkinlik şekillenir (Morley ve Thomson, 1984). Ayrıca opistotonus, tortikollis, inkoordinasyon, kafada titreme gibi sinirsel semptomlar gözlenir (Resim 4) (Bazı hayvanlarda kötü kokulu yeşil ishal , kloakal bölgede kirlilik gözlenmektedir (Wyeth , 1990).



Resim 3. Şişkin baş sendromu
WEB_1 kaynağından modifiye edilmiştir.



Resim 4. Sinirsel Semptomlar (Opisthotonus, Tortikollis)
WEB_1 kaynağından modifiye edilmiştir.

2.5. Teşhis

Virüs konakçıda çok kısa süre kalmakta ve klinik semptomlar şekillendikten sonra izolasyon şansı düşüktür. Klinik semptomlar şekillenmeden yüksek oranda vücuttan saçılmaktadır (Buys ve ark, 1989). Bu sebeple virus izolasyonunda örneğin ne zaman alındığı önemlidir (Cook ve ark, 1991). Yapılan deneysel çalışmalarda inokulasyonun 5-7. Gününden sonraki izolasyon çalışmalarının güçleştiği, virüs yüksek titrede inokule edildiğinde 11-12. güne kadar solunum yolu dokularında az da olsa tekrar izole edilebileceği rapor edilmiştir (Catelli ve ark, 1998).

İzolasyonda diğer izolasyon yöntemlerine göre daha duyarlı olduğundan genellikle TOK tercih edilmelidir. Hücre kültürü ile izolasyonun güç olduğu bildirilmiştir (Jones ve ark, 1988). Buna karşın TRTV' nin CEF ve QT-35 (Quail tumor-35) hücre kültürü kullanılarak direkt izolasyonu gerçekleştirilmiştir (Goyal ve ark, 2000).

İnfeksiyonun tanısında kullanılan, dokularda daha düşük titredeki viral antijeni ortaya koyabilen PCR tekniği, virüs izolasyonuna göre avantajlara sahiptir. Bu teknikle viral antijenin 17-19. güne kadar üst solunum yollarında ortaya konulabildiğini deneysel çalışmalar göstermektedir (Jing ve ark, 1993). Tanı süresi 2-3 gün sürer, diğer patojenlerin varlığı etkilemez (Shin ve ark, 2000). Dani ve arkadaşları, immunochemiluminescent Southern blot RT-PCR ve nested PCR yöntemlerinin single PCR amplikasyonundan en az 100 kat daha duyarlı olduğunu bildirmektedirler (Ali ve Reynolds, 1999).

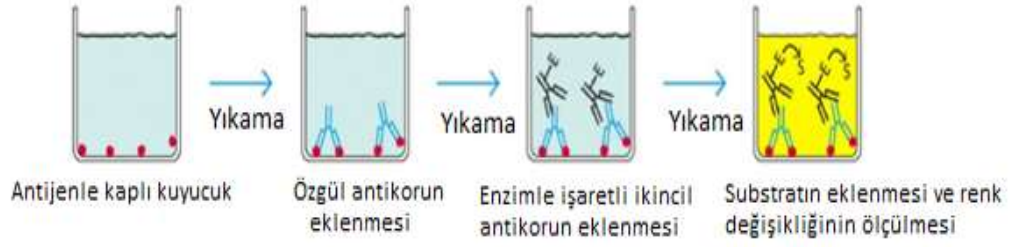
Immunofloresan ve IP teknikleri de viral antijeni ortaya koyma yeteneğinde olduğu bildirilmiştir (Jones ve ark, 1986). Jones ve arkadaşları, IF tekniğinin TOK ile izolasyona daha

hızlı ve duyarlı olduğunu rapor etmiş ancak Jones, IF metodunun sahadaki başarısının yeterli olmayacağını bildirmiştir (O'Loan ve Allan,1990).

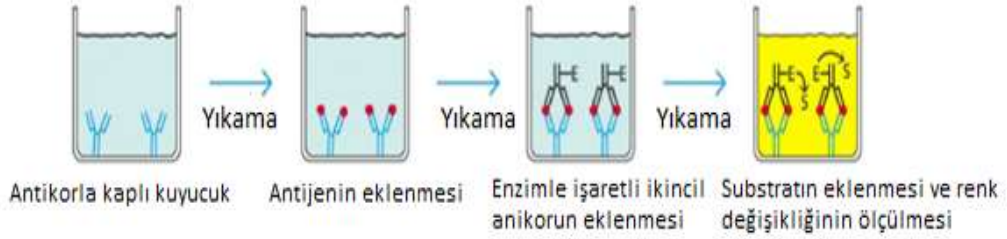
Rhinotracheitis infeksiyonu sonrası humoral immün yanıt oluşmaktadır. Oluşan spesifik antikorlar IIF, SN ve ELISA teknikleri ile ortaya konmaktadır. IFF metodunda kullanılan antijenle kaplı mikroplyetler -30°C 'de 1 yıla kadar saklanabilir ve sonuçların 3 saat gibi bir sürede alınabilir olması ile rutin saha çalışmalarında kullanılabileceği rapor edilmiştir (Usami ve ark, 1999).

Serum Nötralizasyon metodu CEF, CEL ve VETO hücre kültürlerinde uygulanmaktadır. Bu teknikte adapte olmuş virüs ya da adapte olmamış virüs kullanıldığında TOK tercih edilmektedir (Naylor ve Jones, 1993). O'Loan ve arkadaşları, infeksiyonun erken döneminde oluşan, SN metoduyla ortaya konulabilen IgM sınıfı antikorların ELISA metodu ile tespit edilemediğini açıklamışlardır (O'Loan ve ark, 1989).

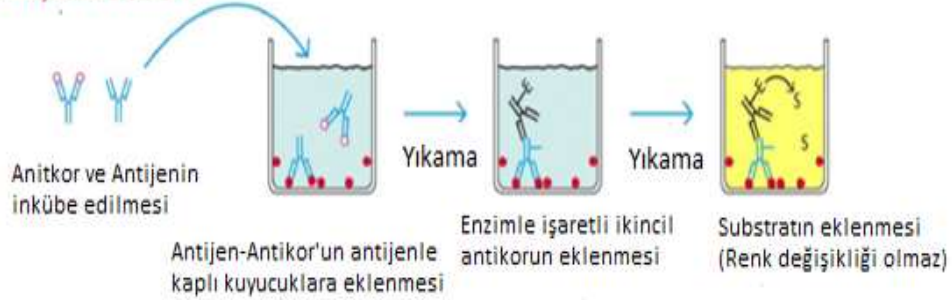
İndirek ELISA



Sandviç ELISA



Yarışmalı ELISA



Resim 5. Farklı Çeşitlerde ELISA Protokollerine Örnekler; A) İndirekt ELISA B) Sandviç ELISA C) Kompetitif ELISA
Baskıncı (2012)'dan modifiye edilmiştir.

Anti Rhinotracheitis Virus antikorlarını tespit etmek için ELISA teknikleri geliştirilmiştir (Wyeth ve ark, 1987). ELISA'nın bazı tekniklerinde saf olmayan, bazılarında ise pürifiye antijen kullanılmıştır (Cook ve ark, 1988). Enfeksiyonun tanısında, aşılamaların değerlendirilmesinde indirekt ve blocking yöntemiyle hazırlanmış ticari ELISA kitleri kullanılmaktadır (Chettle ve ark, 1990).

İndirekt ELISA tekniğinde virüs ile kaplı mikrolept gözlerine, test edilecek serum ilave edilip, tür spesifik enzimle işaretli antiglobulin ve daha sonra substrat ilavesi ile test serumunda spesifik antikorların varlığı renk değişimi oluşması ile ortaya konmaktadır (Resim 5) (Jones, 1996).

Blocking ELISA tekniğinde ise mikropleyte test serumu sonra monoklonal antikor ilave edilir. Daha sonra monoklonal antikorlara karşı hazırlanmış enzimle işaretlenmiş antiglobulin, substrat ilave edilir. Ren değişikliğinin oluşması sonucun negatif olduğunu gösterir (Resim 5) (Jones, 1996).

Virus izolasyonunun güç olmasından dolayı tanıda serolojik yöntemler büyük önem taşımaktadır (Grant ve ark, 1987).

2.6. Tedavi, Koruma ve Kontrol, Aşılama

Rhinotracheitis Virus İnfeksiyonları ve Swollen Head Syndrome’unda sekonder bakteriyel infeksiyonlar için antibiyotik kullanımı önemlidir. Ayrıca havalandırma hijyen, altlık yerleşim sıklığı gibi yetiştirme koşullarının iyileştirilmesi önerilmektedir (Jones , 1996). Yetiştirmede hepsi içeri hepsi dışarı kuralının uygulanması da hastalığı önlemede önemlidir (Usami ve ark, 1999).

Korumada alınan önlemlerin dışında aşılama yapılmaktadır (Cook ve ark, 1989). Canlı ve inaktif aşılarda, infeksiyon nedeniyle şekillenen kayıpları önlediği bildirilmiştir (Cook, 2000). Canlı aşılama uygulama hayvanlarda yumurta verimi öncesinde inaktif aşılarda uygulanmasının etkili olduğu bildirilmiştir (Cook ve ark, 1996). Cook ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, canlı aşının tek başına hastalığa karşı koruyamamasına rağmen yumurta verimi düşüklüğüne karşı koruduğunu, canlı aşı sonrası inaktif aşının uygulanması ise hastalığa ve yumurta verimi düşüklüğüne karşı koruduğunu bildirmişlerdir (Cook ve ark, 1996).

Virusun önemli virion proteinleri olan füzyon protein ve yüzey glioproteinleri, alt tipler arasındaki yüzey glikoproteinlerdeki farklılıklar dikkate alınarak daha etkili aşılarda oluşturulabileceği ifade edilmiştir. Hali hazırda kullanılan aşılarda, hem güvenilirliği hem de koruma mekanizmasının hala tartışılır olduğu bildirilmektedir (Jones, 1996).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Kan Örnekleri

3.1.2. Örneklerin Alınması

Aydın, İzmir ve Manisa illerindeki Broyler yetiştiriciliği yapan kümeslerden toplam 552 adet alınan kan örnekleri steril ependorflara konuldu. Örnekleme de Aydın'dan 178, İzmir'den 215, Manisa'dan 159 adet örnek toplanmıştır. Örnekler 2017 yılı eylül ayında alınmıştır. Kan numuneleri gerekli mevzuatları içeren yönetmelikler uyarınca sürülerin yaklaşık %3'ünden, 3 ml miktarında alınmasına dikkat edildi.

Çalışmanın yapılmasında, Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun (HADYEK) 22.08.2017 tarihli 2017 yılı VIII. oturumunda alınan 64583101/2017/091 nolu belge üzerine herhangi etiğe aykırı durum oluşmamıştır.

Serumu çıkarmak için, numuneler 2000 devirde 3 dk santrifuj yapıldı. Elde edilen serumlar, farklı steril tüplere koyularak ELISA testi uygulanıncaya kadar -20°C'de depolandı.

3.1.3. ELISA

3.1.3.1. ELISA Teçhizatı

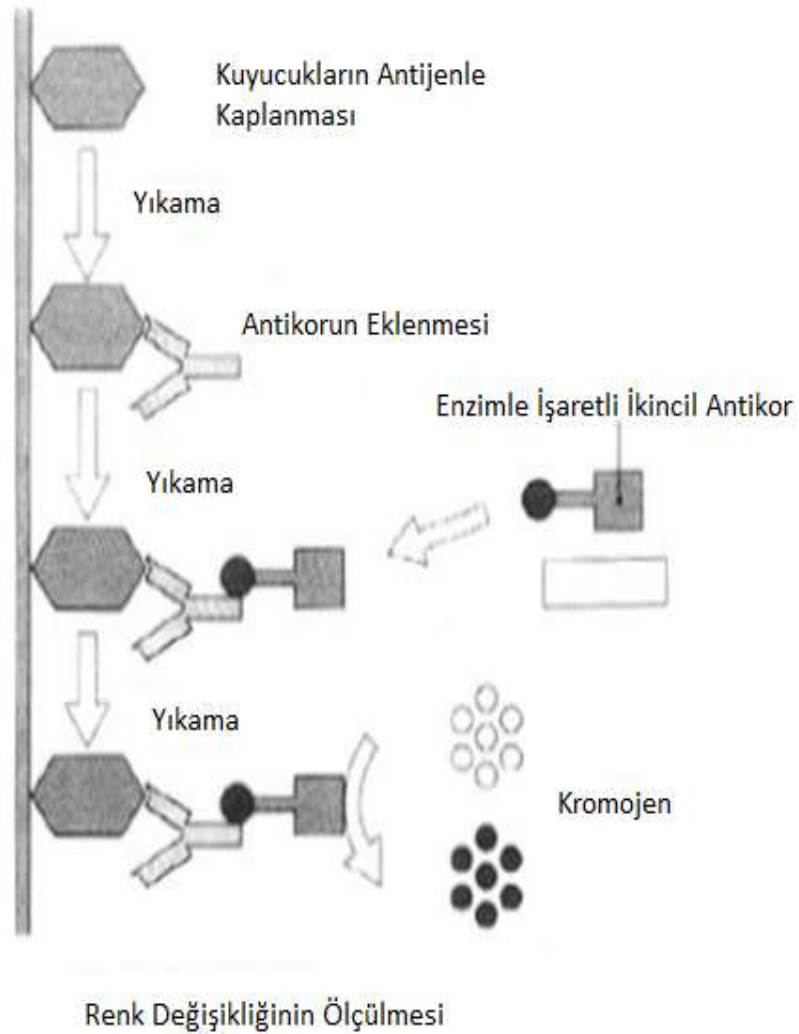
Tek ve çok kanallı pipetler (Socorex®), serumda *Avian Rhinotracheitis Virus* antikor miktarını ölçmek için ELISA kiti (Rel Assay Diagnostics®, Şehitkamil, Gaziantep, Türkiye) kullanıldı. ELISA testi okuyucusu olarak ise BioTekElx 808® (USA), 405 nm filtreli kullanıldı.

3.2. Yöntem

3.2.1. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Kiti ve Test Prensibi

Serum örneklerinde *Avian Rhinotracheitis Virus*'a karşı spesifik antikor tespiti için ticari bir ELISA kiti [*Avian Rhinotracheitis Virus* test Kit (Rel Assay Diagnostics®, Şehitkamil, Gaziantep, Türkiye)] ile test edildi. Testin uygulanmasında üretici firmanın protokolü belirttiği prosedürler doğrultusunda çalışılmıştır. Prensibi ise Pleyt kuyucuklarına eklenen serum içerisinde *Avian Rhinotracheitis Virus*'una karşı antikor pozitif saptanması

halinde, pleyt kuyucuklarında var olan inaktif *Avian Rhinotracheitis Virus* antijeni ile antikor-antijen kompleksi oluşmaktadır. Nonspesifik tavuk antikorları yıkama basamağı ile bertaraf edilmekte; bu basamağın ardından alkalın fosfataz enzimi ile işaretli anti-tavuk antikorları anti- *Avian Rhinotracheitis Virus* antikorlarına yapışmaktadır. Testin final basamağında enzim ve pNPP kromojen olan substrat ile beliren renk değişiminin spektrofotometrik dansitesi ELISA cihazında okutulur (Resim 6). Oluşacak rengin yoğunluğu direkt olarak serum içerisindeki antikor seviyesi ile doğru orantılı biçimde sonuçlanmaktadır.



Resim 6. ELISA Protokolü
Baskıncı (2012)'den modifiye edilmiştir.

3.2.1.1. ELISA kiti içeriği

1. İnaktive edilmiş *Avian Rhinotracheitis Virus* antijeni ile emdirilmiş kuyucuklar,
2. Konjugat çözeltisi (Koyun anti-tavuk: Tris buffer içinde protein fikzatorü ile alkalın fosfataz, inert kırmızı boya, protektif olarak sodyum tasit % 0,1 w/v),
3. Substrat tabletleri (Substrat tamponu ile çözöürölmesi için p-NitrophenylPhosphat (pNPP) tabletler),
4. Substrat tampon çözeltisi: Enzim ko-faktörleri ile dietanolamin tamponu,
5. Stop çözeltisi: Dietanolamin tamponu içinde sodyum hidroksit,
6. Serum numunelerinin dilüsyonu: Protein fikzatorlü ve koruyucu sodyum asitli fosfat tamponu,
7. Yıkama çözeltisi: Tweenli toz halinde fosfat tampon çözeltisi,
8. Negatif kontrol: Protein fikzatorlü ve protektif sodyum asitli fosfat tamponunda özgül ajanlardan ari serum,
9. Pozitif kontrol: Protein fikzatorlü ve protektif sodyum asitli fosfat tamponunda özgül *Avian Rhinotracheitis Virus* antikorları.

Substrat reagent: Reagent test yapılacağı zaman hazırlanmalıdır. Substrat reagentin hazırlamak amacıyla, 5,5-6 ml substrat buffer içerisine 1 tablet atılarak tamamıya çözöürölür (+/- 10 dak.).

-Yıkama buffer: Yıkama buffer paketinin tamamı 1 litre deiyonize su içinde çözöürölür.

-Diğer kit bileşenleri hazır olarak kit içerisinde bulunmaktadır. Oda sıcaklığına geldiklerinde kullanılmaktadır.

3.2.1.2. Testin yapılışı

Test edilecek serum örneklerinin bilgisayara kayıtları yapıldı. Kuyucuklar, tavuk serumları ELISA test kiti oda sıcaklığına gelinceye kadar (yaklaşık 22-24 °C) dinlendirildi. Tavuk serum numuneleri 1/500 oranında dilüe edildi. ELISA belirtildiği gibi yapıldı.

A1 ve B1 kısımlarına negatif kontrol, C1 ve D1 kısımlarına pozitif kontrol serumları 100'er µl ilave edildi.

Diğer kısımlara 1/500 oranında dilüe edilmiş serum numuneleri 100'er µl olacak şekilde *Avian Rhinotracheitis Virus* antijeni ile kaplanmış kuyucuklara ayrı ayrı tekniğine göre ilave edildi.

Kuyucuklar oda sıcaklığında, analiz tezgahının üstüne değmeyecek şekilde, hava geçişi sağlanmış şekilde 30 dk dinlendirildi. Böylelikle, serum numunelerinde *Avian Rhinotracheitis Virus* antikoru saptanması halinde pleyt kısımlarındaki *Avian Rhinotracheitis Virus* antijenlerine yapışarak, antijen-antikor bileşeninin meydana gelmesi sağlandı. Bu arada konjugat oda sıcaklığında bekletildi.

Pleytler ters düz edilip seri bir biçimde içindeki sıvı atılarak 4 kere, kuyucukların her biri için en az 350 µl yıkama çözeltisi ile içleri iyice yıkandı. Pleytler ters düz edilip kurutma kağıdına vurularak sıvı kalmaması sağlandı. Pleytin yıkanması sonucunda özgül olmayan antikorlar ve diğer serum proteinleri ortamdaki bertaraf edildi.

Pleyt kuyucuklarının her birine 100'er µl konjugat ilave edilerek oda sıcaklığında 30 dk dinlendirildi. Böylelikle enzimle işaretlenmiş konjugatın hakiki *Avian Rhinotracheitis Virus* antikorlarına yapışması sağlandı.

1 pleyt için kullanılabilen 11 ml substrat tampon çözeltisine 2 tane substrat tableti ilave edilip bekletilerek karışması sağlandı.

30 dakika süreyi takiben pleytler ters düz edilip hızlı bir şekilde içindeki sıvı atıldı. Kuyucuklar 4 kez, her bir kuyucuk için 350 µl yıkama çözeltisi ile temizlendi. Bu yıkama basamağı ile *Avian Rhinotracheitis Virus* antikorlarına yapışmayan konjugat ortamdaki bertaraf edildi. Yıkama basamağından sonra tekrar pleyt kurutma kağıdına vurularak her kuyucuğa 100 µl substrat ilave edilerek, 15 dakika oda sıcaklığında dinlendirildi. 15 dakika sonunda reaksiyonun sonlandırılması için her kuyucuğa 100 µl olacak şekilde stop çözeltisi eklendi. Meydana gelen sarı rengin, serum numunelerindeki antikor seviyesine bağlı olarak değişik dansiteler meydana getirdiği saptandı.

3.2.1.3. Sonuçların değerlendirilmesi

Analizi okumak ve antikor seviyelerini saptamak için meydana gelen rengin spektrofotometrik dansitesi ELISA cihazında (Thermo® Multiskan FC Microplate Photometer) okundu.

Dağıtıcı şirketin prosedürüne göre, analizin tutarlı olması için ortalama negatif kontrol absorbans değeri 0,30'dan aşağı ve ortalama negatif kontrol ile ortalama pozitif kontrol farkının 0,15'ten yukarı olması gereklidir. ART pozitif kontrol, tavuklardaki antikor titresini uygun bir şekilde ortaya çıkarabilmesi için optimize edilmiş olarak ticari kullanıma açılmıştır. Böylelikle tavuklardan toplanmış örneklerdeki antikor titreleri hassas bir şekilde ayarlanabilmektedir. Bu şekildeki orana S/P (örnek pozitif oranı) denmektedir.

S/P oranı řu şekilde saptanmaktadır;

S: (Örneklerin spektrofotometrik dansite ortalaması-Negatif kontrolün spektrofotometrik dansite ortalaması)

P: (Pozitif kontrolün spektrofotometrik dansite ortalaması-Negatif kontrolün spektrofotometrik dansite ortalaması)



4. BULGULAR

4.1. Örnekler

Aydın, İzmir ve Manisa illerindeki Boriler yetiştiriciliği yapan kümeslerden toplam 552 adet alınan kan örnekleri steril ependorflara konuldu. Örnekleme de Aydın'dan 178, İzmir'den 215, Manisa'dan 159 adet örnek toplanmıştır. İzmir'den 11, Manisa'dan 8, Aydın'dan 9 farklı çiftlik olmak üzere toplam 28 farklı çiftlikten numuneler toplanmıştır.

4.2. Serolojik Bulgular

Serum örneklerinde *Avian Rhinotracheitis* antikor tespiti için (Rel Assay Diagnostics®, Şehitkamil, Gaziantep, Türkiye) ticari olarak hazırlanmış ELISA kiti kullanılmıştır. Test sonuçları iller bazında farklı gruplarda analiz edildiğinde;

Aydın ilindeki toplam 178 örnekte seropozitiflik oranı %69,66 (124 seropozitif – 54 seronegatif) olarak belirlenmiştir (Tablo 2).

Tablo 2. Aydın ili Broyler çiftlikleri ART ELISA test sonuçları

Aydın İli	Numune	Seronegatif	Seropozitif	Seronegatif %	Seropozitif %
Kümes A	18	4	14	22,23	77,77
Kümes B	20	5	15	25	75
Kümes C	20	10	10	50	50
Kümes D	20	0	20	0	100
Kümes E	20	20	0	100	0
Kümes F	20	0	20	0	100
Kümes G	20	0	20	0	100
Kümes H	20	8	12	40	60
Kümes I	20	7	13	35	65
Toplam	178	54	124	30,34	69,66

İzmir ilindeki toplam 215 örnekte seropozitiflik oranı % 80,93 (174 seropozitif –41 seronegatif) olarak belirlenmiştir (Tablo 3).

Tablo 3. İzmir ili Broyler çiftlikleri ART ELISA test sonuçları

İzmir İli	Numune	Seronegatif	Seropozitif	Seronegatif %	Seropozitif %
Kümes A	20	0	20	0	100
Kümes B	17	0	17	0	100
Kümes C	20	7	13	35	65
Kümes D	20	0	20	0	100
Kümes E	19	0	19	0	100
Kümes F	18	0	18	0	100
Kümes G	21	0	21	0	100
Kümes H	21	0	21	0	100
Kümes I	21	14	7	66,67	33,33
Kümes J	20	6	14	30	70
Kümes K	18	12	6	66,67	33,33
Toplam	215	41	174	19,07	80,93

Manisa ilindeki toplam 159 örnekte seropozitiflik oranı %69,18 (110 seropozitif – 49 seronegatif) olarak belirlenmiştir (Tablo 4).

Tablo 4. Manisa ili Broyler çiftlikleri ART ELISA test sonuçları

Manisa İli	Numune	Seronegatif	Seropozitif	Seronegatif %	Seropozitif %
Kümes A	20	5	15	25	75
Kümes B	21	6	15	28,58	71,42
Kümes C	17	13	4	76,47	23,53
Kümes D	20	0	20	0	100
Kümes E	20	5	15	25	75
Kümes F	23	11	12	47,83	52,17
Kümes G	19	9	10	47,37	52,63
Kümes H	19	0	19	0	100
Toplam	159	49	110	30,82	69,18

Her üç vilayetin toplamında bütün örneklere göre bir analiz yapıldığında ise çalışmada değerlendirilen toplam 552 tane kan serumunun ELISA testi ile ART açısından değerlendirmesinde seropozitiflik oranı % 73,91 (408 seropozitif – 144 seronegatif) olarak saptanmıştır (Tablo 5).

Tablo 5. İllere göre ve toplam ART ELISA test sonuçları

İller	Numune	Seronegatif	Seropozitif	Seronegatif %	Seropozitif %
Aydın	178	54	124	30,34	69,66
İzmir	215	41	174	19,07	80,93
Manisa	159	49	110	30,82	69,18
Toplam	552	144	408	80,23	237,59

5.TARTIŞMA

Tavuk infeksiyonları irdelendiğinde, respiratorik yol hastalıkları, viral infeksiyonlar arasında önemli bir pozisyonda bulunmaktadır. Oluşturduğu katastrofik kayıplar nedeniyle kanatlı işletmelerinde devasa problemlerin ilk sırasında yer almaktadır.

Araştırmamızda sero-prevalansını incelediğimiz *Avian Rhinotracheitis* virüs solunum yollarında hastalığa neden olan önemli viral etkenler arasındadır.

Her yaştaki tavuklar virüs tarafından infekte olabilirler. Genel olarak broylerlerde 4-6 haftalık, damızlık broylerlerde 24-52 haftalık dönemlerde daha çokta yumurta veriminin pik yaptığı 30. haftada görülmektedir (Pattison ve ark, 1989).

Avian Rhinotracheitis serolojik tanısında ELISA yaygın olarak kullanılmaktadır (Grant ve ark, 1987). Araştırmamızda ise Rel Assay Diagnostics firması tarafından üretilen ELISA kiti kullanılmıştır.

Ülkemizde, tavuklarda Swollen Head Syndrome ilk kez Aydın ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir (Aydın ve ark, 1993). Ankara ve çevresindeki illerden elde edilen 3-36 haftalık broyler, broyler damızlık ve yumurtacı 43 tavuktan SHS klinik bulgularını saptamışlar ve 2 kümese ait 15 adet tavuk kanından elde edilen serum anti-TRTV yönünden ELISA ile incelendiğinde ise 2 adet serumun pozitif olduğu tespit edilmiştir (Aydın ve ark, 1993).

Broyler kümeslerinden 8 adetinde ve broyler damızlık kümeslerinin tamamında, sırasıyla %31,8-75,9 ve %5,4-48,6 oranlarında anti-TRTV antikorları saptanmıştır (Goyal ve ark, 2000).

Cook ve arkadaşları, SHS gözlenen 6 adet broyler damızlık sürüsünün 5'inde bu antikorların varlığını saptamışlardır (Cook ve ark,1988).

Tanaka ve arkadaşları, ELISA ile yaptıkları bir serosurveyde, Japonya'da 1985-1995 yılları arasında 36 farklı bölgeden klinik olarak sağlıklı broyler ve ticari yumurtacı tavuk serumlarında, anti-TRTV antikorları yönünden 1988 yılında %2,2, yıldan yıla artarak, 1995 yılında %54,2 oranında pozitiflik tespit etmişler ve 1988 yılından önce pozitif serumun saptanmadığını bildirmişlerdir. Pozitif kümes oranını 1988 yılında %6,3, 1995 yılında %50 olarak tespit etmişlerdir (Tanaka ve ark, 1996).

Toro ve arkadaşları Şili'de, 9 adet broyler sürüsünün 2 adedini anti-TRTV antikorları yönünden şüpheli, 7 adedini negatif olarak bulmuşlardır. Aynı çalışmada 10 adet besi hindi sürüsünün 3 adedinde %28 oranında TRTV'a karşı antikorları varlığı tespit edilmiş, 10 adet

hindi sürüsünde ise antikor yanıtı saptanmamış ancak 2 adet şüpheli tespit edilmiştir (Toro ve ark, 1998).

Tavukların Swollen Head Syndrome infeksiyonunda, IBV ve NDV'nun varlığında hastalık şiddetinin arttığı bildirilmiştir (Jones, 1996). Jones broylerlerin solunum yolu hastalıklarında TRTV, IBV Massachusetts ve varyant suşları ile daha az oranda NDV'nun birlikte bulunabileceğini rapor etmiştir (Jones, 1996). Nakamura ve arkadaşları, SHS gözlenen ve daha önce IB ve ND'ye karşı aşılanmış 4 adet sürünün birinde RT-PCR ile TRTV ve NDV antijenlerini, diğer bir sürüde sadece IBV antijenini tespit etmişlerdir. Ancak antijenlerinin, saha virusuna mı yoksa aşı virusuna mı ait olduğunun bilinmediğini bildirmişlerdir (Nakamura ve ark, 1997).

Lu ve arkadaşları, TRTV izole edilen, Swollen Head Syndrome gözlenen broyler sürüsünde ELİSA kiti ile hastalık öncesi toplanan serumlara göre hastalıktan 4-5 hafta sonra alınan serumlarda daha yüksek titrede anti-TRTV antikorlarını tespit etmiştir. Bu titre farklılığının ise TRTV infeksiyonunu gösterdiğini bildirmiştir (Lu ve ark, 1994).

Maharaj ve arkadaşları, SHS görülen broyler damızlık sürülerde klinik belirtilen başlamadan önce Anti-TRTV yönünden negatif olduğu tespit edilmiş, ancak klinik belirtilerin başlamasından 2-3 hafta sonra antikorların varlığını tespit etmişlerdir (Maharaj ve ark, 1994).

Chiang ve arkadaşları, Minnesota'da hindilerdeki serosurvey çalışmasında %48,7 oranında TRTV antikorlarının varlığını tespit etmişlerdir (Chiang ve ark, 2000).

Yapılan çalışma sonuçlarımız; pozitiflik oranları her üç vilayetin toplamında bütün örneklerle göre bir analiz yapıldığında ise çalışmada değerlendirilen toplam 552 tane kan serumunun ELISA testi ile ART açısından değerlendirmesinde pozitivite oranı % 73,91 (408 pozitif – 144 negatif) olarak saptanmıştır. Aydın ilindeki pozitiflik oranı %69,66 , İzmir ilindeki pozitiflik oranı % 80,93, Manisa ilindeki pozitiflik oranı ise %69,18 olarak tespit edilmiş ve oldukça yüksek bulunmuştur. Ülkemizde olduğu gibi başka ülkelerde de hastalık görülmekte ancak gerekli hassasiyet gösterilmemektedir. Bu sebeple çalışmalar yapılarak hastalıkla ilgili daha ayrıntılı bilgilerin elde edinilmesi oldukça önem arz etmektedir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmamızda, Aydın, İzmir ve Manisa illerindeki ticari broyler yetiştirilen kümeslerde, solunum yollarında hastalığa ve yüksek verim kayıplarına neden olabilen *Avian Rhinotracheitis* virusunun neden olduğu hastalığın serolojik prevalansına bakılmıştır. Aydın'da 9 farklı kümeden 178, İzmir'de 11 farklı kümeden 215, Manisa'da 8 farklı kümeden 159 adet olmak üzere toplam 28 farklı kümeden 552 adet kan örneği kullanılmıştır. Her üç ilin toplamında tüm numunelere göre bir değerlendirme yapıldığında ise araştırmada işlenen toplam 552 adet kan serumunun ELISA testi ile ART yönünden değerlendirmesinde seropozitiflik oranı % 73,91 (408 seropozitif – 144 seronegatif) olarak tespit edilmiştir. Aydın ilindeki seropozitiflik oranı %69,66 , İzmir ilindeki seropozitiflik oranı % 80,93, Manisa ilindeki seropozitiflik oranı ise %69,18 olarak tespit edilmiştir. İzmir ilindeki seropozitiflik oranının yüksek olmasını; bu bölgedeki kümes sayısının fazla olması, ticari firmaların fazlalığı ve bunlara ait yem-kesim nakliye araçlarının hastalığı yayma risklerinin bulunması, düzenli ve yeterli dezenfeksiyon çalışmalarının yapılmamasına bağlı olduğu ön görülmektedir. Aydın ve Manisa illerinde ise tüm bu risklerin daha az olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

ART hastalığı sekonder patojen bakterilerle birlikte seyrettiğinde önemli bir risk faktörü olarak değerlendirilmektedir. Virusun yayılma şeklinin tam aydınlatılamaması, her yaştaki tavuklarda görülmesi ve ciddi kayıplara yol açması nedeniyle, ayrıntılı çalışmalar yapılarak üstünde daha fazla durulması gereken bir konudur.

ART her zaman dikkate alınması ve gerekirse aşılama yapılması dahil tüm koruyucu önlemlerin alınması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

Ali A, Reynolds DL. A reverse transcription-polymerase chain reaction assay for detection of avian pneumovirus (Colorado strain). *Avian Disease* 1999, 43,600,603.

Aydın N, Akan M, Erdeğer J. Ankara ve çevresinde swollen head syndrome olguları üzerinde bir çalışma. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi* 1993, 7, 24,33.

Baskıncı Ş. ELISA Sistemleri için Yeni Bir Alternatif Teknoloji: Tekrar Kullanılabilir Afinite Kuyucuklar, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü İleri Teknolojiler Anabilim Dalı Biyoteknoloji Danışman; Prof. Dr. Rıdvan SAY 2012, 74.

Buys SB, Du Preez JH, Els HJ. Swollen Head Syndrome in chickens: a preliminary report on the isolation of a possible aetiological agent. *Journal of South African Veterinary Association* 1989, 60, 221,222.

Catelli E, Cook JKA, Chester J, Orbel SJ, Woods MA, Baxendale W, Huggins MB. The use of virüs isolation, histopathology and immunoperoxidase techniques to study the dissemination of a chicken isolate of avian pneumovirus in chickens. *Avian Pathology* 1998, 27, 632, 640.

Chettle NJ, Wyeth PJ, Steward A, Withworth A. Avian rhinotracheitis diagnostic kit. *Veterinary Record* 1990, 126, 148, 149.

Chiang S, Dar AM, Goyal SM, Halvorson DA, Kapur V, Nagaraja KV, Pedersen JC, Panigrahy B, Senne D, Sheikh MA. A modified enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of avian pneumovirus antibodies. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 2000, 12, 381, 384.

Collins MS, Gough RE, Lister SA, Chettle N, Eddy R. Further characterisation of a virus associated with turkey rhinotracheitis. *Veterinary Record* 1986, 119:606.

Cook JKA. Avian rhinotracheitis. *Revue Scientifique et Technique International Office of Epizootics* 2000, 19, 602,613.

Cook JKA, Dolby CA, Southee DJ , Mockett APA. Demonstration of antibodies to turkey rhinotracheitis virüs in serum from commercially reared flocks of chickens. *Avian Pathology* 1988, 17,403,410.

Cook JKA, Ellis MM, Dolby CA, Holmes HC, Huggins MB, Pinney PM. A live attenuated turkey rhinotracheitis virus vaccine. Stability of the attenuated strain. *Avian Pathology* 1989, 18, 511,513.

Cook JKA, Ellis MM, Huggins MB. The pathogenesis of turkey rhinotracheitis virüs in turkey poultlets inoculated with the virüs alone or together with two strains of bacteria. *Avian Pathology* 1991, 20, 155, 156.

Cook JKA, Kinloch S, Ellis MM. In vitro and in vivo studies in chickens and turkeys on strains of turkey rhinotracheitis virüs isolated from the two species. *Avian pathology* 1993, 22, 157, 170.

Cook JKA, Ortel F, Orbell S, Woods MA, Huggins MB. An experimental turkey rhinotracheitis (TRT) infection in breeding turkeys and the prevention of its clinical effects using live-attenuated and inactivated TRT vaccines. *Avian Pathology* 1996, 25, 231, 243.

Dani MA, Durigan EL, Arns CW. Molecular Characterization of Brazilian Avian Pneumovirus isolates; comparison between immunochromatographic southern blot and nested PCR. *Journal of Virological Methods* 1999, 79, 237,241.

Fenner F, E. Paul J. Gibbs, Marian C. Horzinek, Michael J. Studdert, Frederick A. Veterinary Virology. *Murphy* 1999.

Giraud P, Bennejean G, Guittet M, Toquin D. Turkey rhinotracheitis in France. Preliminary investigations on a ciliostatic virus. *Veterinary Record* 1986, 119,606,607.

Grant M, Baxter-Jones C, Wilding GP. An enzyme-linked immunosorbent assay for the serodiagnosis of turkey rhinotracheitis infection. *Veterinary Record* 1987, 120,279,280.

Gough RE, Collins MS, Cox WJ, Chettle NJ. Experimental infection of turkey, chickens, ducks, geese, guinea fowl, pheasants and pigeons with turkey rhinotracheitis virus. *Veterinary Record* 1988, 123,58,59.

Gough RE, Manvell RJ, Drury SEN, Pearson DB. Isolation of an avian pneumovirus from broiler chickens. *Veterinary Record* 1994,134,353,354.

Goyal SM, Dar AM, Halvorson DA, Kapur V Nagaraja KV, Shaw DP, Shiang SJ. Isolation of avian pneumovirus from an outbreak of respiratory illness şn Minnesota turkeys. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 2000, 12, 166,168.

Hafez HM. The role of pneumovirus in Swollen Head Syndrome of chickens review. *Archiv fur Geflugelkunde* 1993, 57, 181, 185.

Jing LI, Cook JKA, Brown TDK, Shaw K, Cavanagh D. Detection of turkey rhinotracheitis virüs in turkey using the polymerase chain reaction. *Avian Pathology* 1993, 22,771,783.

Jones RC, Baxter-Jones C, Wilding Gp, Kelly F. Demonstration of a candidate virüs for turkey rhinotracheitis in experimentally inoculated turkeys. *Veterinary Record* 1986, 119, 599,600.

Jones RC, Williams RA, Baxter-Jones C, Savage CE, Wilding GP. Experimental infection of laying turkeys with rhinotracheitis virüs distribution of virüs in the tissues and serological response. *Avian Pathology* 1988, 17, 841,850.

Jones RC. Avian Pneumovirus infection, questions still unanswered. *Avian Pathology* 1996,25,639,648.

Lister SA, Chattle N, Collins MS, Ed dy R Gough RE. Further characterisation of a virus associated with turkey rhinotracheitis. *Veterinary Record* 1986, 119, 606.

Lu YS, Shien YS, Tsai HJ, Tseng CS, Lee SH, Lin DE. Swollen head syndrome in Taiwan- isolation of an avian pneumovirus and serological survey. *Avian Pathology* 1994,23,376,378.

Maharaj SB, Thomson DK, Graca JV. Isolation of an avian pneumovirus-like agent from broiler breeder chickens in South Afrika. *Veterinary Record* 2000,44,222,226.

Majo N, Marti M, O'loan CJ, Allan GM, Pages A, Ramis A. Ultrastructural study of turkey rhinotracheitis virüs infection in turbinates of experimentally infected chickens. *Veterinary Microbiology* 1996, 52, 37,48.

Morley AJ, Thomson DK. Swollen Head Syndrome in broiler chickens. *Avian Disease* 1984, 28, 238,243.

Nakamura K, Mase M, Tanimura N, Yamaguchi S, Nakazawa M, Yuasa N. Swollen Head Syndrome in broiler chickens in Japan: its pathology, microbiology and biochemistry. *Avian Pathology* 1997, 26, 139, 154.

Naylor CJ, Jones RC. Turkey Rhinotracheitis a review. *Veterinary Bulletin* 1993, 63, 439,449.

O'loan CJ, Allan GM. The detection of turkey rhinotracheitis virüs antigen in formalin-fixed paraffin embedded tissue using a streptavidin-biotin immunoperoxidase method. *Avian pathology* 1990, 19, 401,407.

O'loan CJ, Allan G, Baxter-Jones C, McNulty MS. An improved ELISA and serum neutralisation test for the detection of turkey rhinotracheitis virüs antibodies. *Journal of Virological Methods*, 1989, 25, 271,282.

Otsuki K, Hirai N, Mitani M, Itani M, Shimohatata T, Kunii E, Uramoto K, Kiyotake M, Kato H, Ellis MM, Cook JKA. Demonstration of serum neutralising antibody to turkey rhinotracheitis virüs in serum from chicken flocks in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science* 1996, 58,869,874.

Pattison M, Chettle NJ, Randal CJ, Wyeth PJ. Observation on swollen head syndrome in broiler and broiler breeder chickens. *Veterinary record*, 1989, 125, 229, 231.

Pattison M. - European perspective of TRT - TRT in the field: field situation and control. In Proc. Technical supplement of the Roche avian pneumovirus workshop (S.R. Clarke & L.M. Ginsburg, eds). 30 June-1 July, St Cloud, Minnesota, *Roche Animal Nutrition and Health* 1998, 43,49.

Pringle CR. Virus Taxonomy-1996. A Bulletin from the Xth International Congress of Virology in Jerusalem. *Archives of Virology* 1996,141,2251,2256.

Pringle CR. Virus Taxonomy-1999. The universal system of virus taxonomy, updated to include the new proposals ratified by the International Committee on Taxonomy of Viruses during 1998. *Archives of Virology* 1999, 144, 422, 429.

Seal BS, Seller HS, Meinersmann RJ. Fusion protein predicted amino acid sequence of the first US avian pneumovirus isolate and lack of heterogeneity among other US isolates. *Virus Research* 2000, 66, 139,147.

Shin HJ, Dhaw DP, Goyal SM, Halvorson DA, Jirjis F, Nagaraja KV, Rajashekara G. Specific detection of avian pneumovirus (APV) US isolates by RT-PCR. *Archives of Virology* 2000, 145, 1239,1249.

Tanaka M, Kokumai N, Obi T, Higashihara R, Takuma H, Hiramatsu K, Shimizu Y. A serological survey of turkey rhinotracheitis virus infection in chicken in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science* 1996, 58,689,691.

Toro H, Hidalgo H, Ibanez M, Hafez HM. Serologic evidence of pneumovirus in Chile. *Avian Diseases* 1998, 42, 815,817.

Usami Y, Mase M, Yamaguchi O, Imai K. Detection of antibodies to avian pneumovirus by a micro-indirect immunofluorescent antibody test. *Avian Disease* 1999, 43,384,390.

WEB_1. <https://thepoultrysite.com/publications/diseasesofpoultry/197/swollenheadsndrome>.
Eriřim Tarihi: 25.05.2019

Wyeth PJ, Chettle NJ, Gough RE, Collins MS. Antibodies to TRT in chickens with swollen head syndrome. *Veterinary record* 1987, 120, 286,287.

Wyeth P. Turkey rhinotracheitis, swollen head syndrome cause heavy loss. *Poultry Digest* 1990, 49, 16, 18.

ÖZGEÇMİŞ

Soyadı, Adı : DURAK, Esin
Uyruk : T.C.
Doğum yeri ve tarihi : Bursa, 1993
E-mail : esin.durak@tarimorman.gov.tr
Yabancı Dil : İngilizce

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet	Tarihi
Y. Lisans	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji ABD	Devam	
Lisans	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi	2016	

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
2017-Devam	Ordu Akkuş İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü	Veteriner Hekim