



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**BROİLER SÜRÜLERDE İNFEKSİYÖZ BURSAL
HASTALIĞINDA UYGULANAN İMMUNKOMPLEKS AŞININ
ETKİNLİĞİNİN İZLENMESİ**

Akın ÜNAL

**VETERİNERLİK MİKROBİYOLOJİSİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Hakan YARDIMCI**

**ANKARA
2024**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BROİLER SÜRÜLERDE İNFEKSİYÖZ BURSAL
HASTALIĞINDA UYGULANAN İMMUNKOMPLEKS AŞININ
ETKİNLİĞİNİN İZLENMESİ**

Akın ÜNAL

**VETERİNERLİK MİKROBİYOLOJİSİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

DANIŞMAN

Prof. Dr. Hakan YARDIMCI

**Bu araştırma Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü'nün
TDK-2022-2603 proje numarası ile desteklenmiştir.**

ANKARA

2024

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Broiler sürülerde İnfeksiyöz Bursal Hastalığında uygulanan immunkompleks aşının etkinliğinin izlenmesi” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Akın ÜNAL

Tarih:

İmza:

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Veterinerlik Mikrobiyolojisi Anabilim Dalında
Akın ÜNAL tarafından hazırlanan
“Broiler Sürülerde İnfeksiyöz Bursal Hastalığında Uygulanan İmmunkompleks Aşının
Etkinliğinin izlenmesi” adlı
tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından DOKTORA TEZİ olarak OY BİRLİĞİ/OY ÇOKLUĞU ile
kabul/ret edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:

İmza

Unvanı Adı ve Soyadı

.....Üniversitesi

Jüri Başkanı

İmza

Unvanı Adı ve Soyadı

.....Üniversitesi

Raportör

İmza

Unvanı Adı ve Soyadı

.....Üniversitesi

Üye

İmza

Unvanı Adı ve Soyadı

.....Üniversitesi

Üye

İmza

Unvanı Adı ve Soyadı

.....Üniversitesi

Üye

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

İmza

Unvanı Adı ve Soyadı

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

Broiler Sürülerde İnfeksiyöz Bursal Hastalığında Uygulanan İmmunkompleks Aşının Etkinliğinin İzlenmesi

İnfeksiyöz Bursal Hastalık (IBD), Gumboro hastalığı olarak da bilinen oldukça bulaşıcı bir hastalıktır. Broiler, yumurtacı ve damızlık tavuklarda bağışıklık sistemini baskılayan ve bursa Fabricius'ta lezyonlara sebep olan ayrıca ekonomik olarak da önemli viral bir hastalıktır. Günümüzde hastalığa karşı canlı aşılar (mild, intermediate, intermediate plus ya da hot), inaktif aşılar, rekombinant vektör aşılar, subunit ve immunkompleks aşılar kullanılmaktadır. Bu aşıların etkinlikleri hastalık kontrolü üzerinde oldukça etkili olmaktadır. Bu çalışmada IBD'ye karşı immunkompleks aşıyla aşılanan broiler hayvanların kuluçkahanelerde aşılama kontrolleri yapılarak farklı haftalardaki antikor düzeylerinin serolojik yanıtı etkisinin karşılaştırılması yapıldı.

Bu tez çalışması kapsamında 10 farklı kümeden 28.günde organ numunelerinin boyutları bursametre ile ağırlıkları ise hassas terazi ile ölçülerek vücut ağırlığına oranlandı. Kümeslerden 1.gün, aşılama sonrası 21.gün ve kesim aşamasında 23'er adet olmak üzere toplam 690 adet kan serumundaki antikor seviyeleri ELISA ile aşılama sonrası 7, 14, 21, 28, 35 gün sonra ve kesim aşamasında 5'er adet olmak üzere toplam 300'er adet bursa Fabricius ve dalak numunesi RT-qPCR ile analiz edildi. Ayrıca laboratuvar çalışmaları sonunda ortaya çıkan tüm bulgular sürülerin broiler besi performans bulgularıyla karşılaştırıldı.

Aşılama sonrası 28.günde bursametreyle ölçülen bursa Fabricius numunelerinin ortalama skorları kümesler arasında 5 ile 6,2 arasında değişti. Bursa Fabricius ağırlıklarının vücut ağırlıklarına oranı ortalamaları kümesler arasında 0,13 ila 0,2 arasında dalak ağırlıklarının vücut ağırlıklarına oranının ortalamaları kümesler arasında 0,04 ila 0,07 arasında değiştiği bulundu. Kümesler arasında ölüm oranları %3,6 ile %8,9 arasında EPEF indeksleri ise 348 ile 413 arasında değişti. Kümesler arasında IBD'ye karşı maternal antikor titrelerinin 5600 ile 10350 arasında değiştiği bulundu. Aşılama sonrası 21. günde IBD antikor titreleri 95 ile 1003 arasında değişti. Kesim aşamasından önce alınan kan serumlarında ise IBD antikor titrelerinin 4091 ile 9370 arasında değiştiği görüldü. RT-qPCR analizi sonrasında aşılama sonrası 7.günde hiçbir kümede bursa Fabricius'ta aşı suşu saptanamazken dalak numunelerinde ise 10 adet kümesin 4 adetinin tamamında %20 oranında, aşılama sonrası 14.günde bursa Fabricius'ta 10 adet kümesin sadece 1 adetinde %20 oranında; dalak numunelerinde tüm kümeslerde %60 ila %80 arasında değişen oranda, aşılama sonrası 21.günde bursa Fabricius'ta tüm kümeslerde %20 ile %40 arasında değişen oranda; dalak numunelerinde de tüm kümeslerde %60 ile %80 oranında değişen oranda aşılama sonrası 28.günde bursa Fabricius numuneleri tüm kümeslerde %20 ile %80 arasında değişen oranda; dalak numunelerinde de tüm kümeslerde %80 ila %100 arasında aşılama sonrası 35.günde bursa Fabricius numuneleri 10 adet kümesin tamamında %40 ile %100 arasında; dalak numunelerinde 10 adet kümesin tamamında %20 ile %40 arasında değişen oranda ve son olarak kesim aşamasında bursa Fabricius numunelerinde tüm kümeslerde %80 ve %100 arasında aşı suşu saptanırken, dalak numunelerinde 10 adet kümesin 6 adetinde %20 ile %60 arasında değişen oranda aşı suşu saptandı.

Sonuç olarak farklı düzeylerdeki maternal antikor seviyelerinin aşı suşlarının organlardaki dağılımını etkilediği görüldü. Ayrıca immunkompleks aşının izlenmesinde moleküler analizlerin etkin şekilde kullanılabileceği düşünüldü. Bu çalışmayla birlikte immunkompleks aşı suşlarının organ dağılımları yaşlara bağlı olarak ortaya koyulmuş ve aşının mekanizmasının anlaşılmasında kanatlı endüstrisine katkı sağlamıştır.

Anahtar Sözcükler: ELISA, İnfeksiyöz Bursal Hastalık, İmmunkompleks Aşı, RT-qPCR

SUMMARY

Monitoring the Effectiveness of Immunocomplex Vaccine Against Infectious Bursal Disease in Broiler Flocks

Infectious Bursal Disease (IBD), also known as Gumboro disease, is a highly contagious disease. It is an economically important viral disease that suppresses the immune system and causes lesions in the bursa of Fabricius in broiler, layer and breeder chickens. Today, live vaccines (mild, intermediate, intermediate plus or hot), inactive vaccines, recombinant vector vaccines, subunit and immune complex vaccines are used against the disease. The effectiveness of these vaccines is very effective on disease control. In this study, vaccination controls of broiler animals vaccinated with an immune complex vaccine against IBD were carried out in hatcheries and the effect of antibody levels at different weeks on the serological response was compared.

Within the scope of this thesis study, the sizes of organ samples from 10 different chicken coops were measured on the 28th day with a bursameter and their weights were measured with a precision scale and proportioned to body weight. Antibody levels in a total of 690 blood serum samples, 23 each from the poultry houses on the 1st day, 21st day after vaccination and at the slaughtering stage, were determined by ELISA at 7, 14, 21, 28, 35 days after vaccination and 5 at the slaughtering stage. A total of 300 bursa Fabricius and spleen samples were analyzed by RT-qPCR. In addition, all findings resulting from laboratory studies were compared with the broiler fattening performance findings of the flocks.

The mean scores of bursa Fabricius samples measured with a bursameter on the 28th day after vaccination varied between 5 and 6.2 among houses. It was found that the average ratio of Bursa Fabricius weights to body weights varied between 0.13 and 0.2 among poultry houses, and the average ratio of spleen weights to body weights varied between 0.04 and 0.07 among poultry houses. Mortality rates among the hens varied between 3.6% and 8.9%, and EPEF indices varied between 348 and 413. Maternal antibody titers against IBD were found to vary between 5600 and 10350 between houses. On day 21 postvaccination, IBD antibody titers ranged from 95 to 1003. In blood serum taken before the slaughter stage, IBD antibody titers were observed to vary between 4091 and 9370. After RT-qPCR analysis, the vaccine strain could not be detected in any of the bursa Fabricius flocks on the 7th day after vaccination, while the spleen samples showed a 20% rate in all 4 of 10 flocks, and on the 14th day after vaccination, it was 20% in only 1 of 10 flocks of bursa Fabricius. ; in spleen samples, at a rate varying between 60% and 80% in all houses, and in bursa Fabricius on the 21st day after vaccination, at a rate varying between 20% and 40% in all houses; In spleen samples, the rate varies between 60% and 80% in all poultry houses. On the 28th day after vaccination, bursa Fabricius samples vary between 20% and 80% in all poultry houses; In spleen samples, it was between 80% and 100% in all poultry houses. On the 35th day after vaccination, bursa Fabricius samples was between 40% and 100% in all 10 poultry houses; In the spleen samples, vaccine strain was detected at a rate ranging between 20% and 40% in all 10 chicken coops, and finally in the bursa Fabricius samples at the slaughter stage, between 80% and 100% in all poultry houses, while in the spleen samples, vaccine strain was detected at a rate ranging between 20% and 60% in 6 of the 10 chicken coops. strain was detected.

As a result, it was observed that different levels of maternal antibodies affected the distribution of vaccine strains in organs. It was also thought that molecular analyzes could be used effectively in monitoring immune complex vaccines. With this study, the organ distributions of immune complex vaccine strains were revealed depending on age and contributed to the poultry industry in understanding the mechanism of the vaccine.

Keywords: ELISA, Immunocomplex Vaccine, Infectious Bursal Disease, RT-PCR

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
Özet	iv
Summary	v
İçindekiler	vi
Önsöz	viii
Simgeler ve Kısaltmalar	ix
Şekiller	x
Çizelgeler	xi
1.GİRİŞ	1
1.1. Hastalığın Tarihçesi	2
1.2. Hastalığın Etiyoloji	2
1.3. Hastalığın Epidemiyolojisi	5
1.4. Hastalığın Klinik ve Makroskopik Bulguları	5
1.5. Hastalığın Patogenezi	7
1.6. Hastalığın Teşhisi	8
1.7. Hastalıktan Korunma ve Kontrol	10
1.7.1. Canlı Aşılar	11
1.7.2. İnaktif Aşılar	12
1.7.3. Rekombinant Vektör Aşılar	12
1.7.4. Subunit Aşılar	13
1.7.5. İmmunkompleks Aşılar	14
2.GEREÇ ve YÖNTEM	17
2.1. Gereç	17
2.1.1. Broiler Kümesleri	17
2.1.2. Aşı	17
2.1.3. Kan Serum ve Organ Numuneleri	18
2.1.4. Serolojik ve Moleküler Kitler	20
2.1.5. Analizlerde Kullanılan Cihazlar	21
2.2. Yöntem	21
2.2.1. Aşı Uygulama Yöntemi, Makroskopik ve Broiler Besi Performans Ölçümleri	21
2.2.1.1. Aşı Uygulama Yöntemi	21
2.2.1.2. Makroskopik Ölçümler	23
2.2.1.3. Broiler Besi Performans Ölçümleri	24
2.2.2. Serolojik Analiz	24
2.2.2.1. Testin yorumlanması	26
2.2.2.2. Antikor Titresinin Hesaplanması	27
2.2.3. Moleküler Analiz	28
2.2.3.1. Nükleik Asit Ekstraksiyonu	28
2.2.3.2. Gerçek Zamanlı Ters Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu	29
2.2.3.2.1. Sonuçların Yorumlanması	30

3.BULGULAR	31
3.1. Enjeksiyon Başarı Kontrolü, Makroskobik Ölçüm ve Broiler Besi Performans Bulguları	31
3.1.1. Enjeksiyon Başarı Kontrolü	31
3.1.2. Makroskobik Ölçüm Bulguları	31
3.1.3. Broiler Besi Performans Bulguları	33
3.2. Serolojik Analiz Bulguları	33
3.3. Moleküler Analiz Bulguları	35
4. TARTIŞMA	38
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	43
KAYNAKLAR	46
EKLER	54
Ek-1. Etik Raporu	54
Ek-2. Kurum İzni	56
ÖZGEÇMİŞ	57



ÖNSÖZ

İnfeksiyöz Bursal Hastalık (IBD), Gumboro hastalığı olarak da bilinen oldukça bulaşıcı bir hastalıktır. Broiler, yumurtacı ve damızlık tavuklarda bağışıklık sistemini baskılayan ve bursa Fabricius'ta lezyonlara sebep olan ayrıca ekonomik olarak da önemli viral bir hastalıktır. İnfeksiyöz Bursal Hastalık virusu (IBDV), bursa Fabricius'u enfekte ederek B hücresi olgunlaşmasını ve antikor sentezini olumsuz etkilemektedir. Genellikle 6 haftalık yaştan küçük tavuklarda, bursa Fabricius'un atrofiye uğraması hayvanları çeşitli hastalıklara yatkın hale getirmektedir. Bu nedenle, ikincil infeksiyonları tetikleyerek tavuklarda yüksek mortalite ve morbiditeye yol açmaktadır. Günümüzde hastalığa karşı canlı aşılar (mild, intermediate, intermediate plus ya da hot), inaktif aşılar, rekombinant vektör aşılar, subunit ve immunkompleks aşılar kullanılmaktadır. Bu aşıların etkinlikleri hastalık kontrolü üzerinde oldukça etkili olmakta ve farklı ekonomik kayıpların önlenmesine olanak sağlamaktadır. Türkiye'de IBD'ye karşı uygulanan immunkompleks aşıların broiler sürülerde etkinliklerinin serolojik olarak izlendiği ancak moleküler olarak araştırılması ile ilgili çalışmaların yazılı literatürde yer almadığı görülmüştür. Bu tez çalışmasında IBD'ye karşı immunkompleks aşı ile aşılanan sürülerde bursa Fabricius ve dalakların makroskopik ölçümleri gerçekleştirildi. Sürülerin farklı haftalardaki antikor düzeylerinin serolojik yanıtı etkisinin karşılaştırılması yapıldı. Aşıların farklı maternal antikor düzeylerinde etkinliği ELISA ile belirlendi. Ayrıca farklı haftalarda bursa Fabricius ve dalak numunelerinde IBD aşı virusunun RT-qPCR ile tespiti gerçekleştirildi. Laboratuvar çalışmaları sonunda ortaya çıkan tüm bulgular sürülerin broiler besi performans bulgularıyla karşılaştırıldı. Elde edilen bilgilerle birlikte immunkompleks aşıların etkinliğinin izlenmesi noktasında kanatlı endüstrisine katkı sağlanması hedeflenmiştir.

Doktora eğitimim boyunca yardımlarını ve ilgilerini esirgemeyen başta danışman hocam Prof. Dr. Hakan YARDIMCI olmak üzere Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerine, bu süreçte bilgi ve deneyimlerini daima benimle paylaşan tez izleme komitesindeki hocam Prof. Dr. Mehmet AKAN ve Prof. Dr. Hıfı Oğuz SARİMEHMETOĞLU'na, doktora çalışmam süresince "YÖK 100/2000 Doktora Projesi" kapsamında çalışmamı maddi olarak destekleyen Yükseköğretim Kurulu'na, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü ile Ankara Üniversitesi Teknokent yerleşkesinde faaliyet gösteren "Avitek Ar-Ge Veteriner Teşhis ve Analiz Laboratuvarına" ve desteklerini her zaman hissettiğim ve yanımda olan sevgili aileme sonsuz teşekkür ederim.

SİMGELER VE KISALTMALAR

-	Eksi
%	Yüzde
®	Tescillidir
°C	Santigrat derece
µl	Mikrolitre
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AGID	Agar Jel İmmunodiffüzyon
BF	Bursa Fabricius
CAM	Koriyoallontoik Membran
DIVA	Differentiating Infected from Vaccinated Animals
DNA	Deoksiriboz Nükleik Asit
DPL	Delaware Hayvanları Laboratuvarı
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
EPEF	Avrupa Üretim Verimliliği Faktörü
ETY	Embriyolu Tavuk Yumurtası
FCR	Yem Dönüşüm Oranı
hVP2	Çok Değişken Viral Protein 2
HVT	Hindi Herpesvirüsü
IBD	İnfeksiyöz Bursal Hastalık
IBDV	İnfeksiyöz Bursal Hastalık Virüsü
Icx	Immunkompleks
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
K	Kesim Aşaması
Kg	Kilogram
LAMP	Döngü Aracılı İzotermal Amplifikasyon
Lot no	Parti Numarası
MDA	Maternal Antikor
MHC	Büyük Doku Uyuşum Kompleksi

ml	Mililitre
nm	Nanometre
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RNA	Ribonükleik Asit
RT-PCR	Revers Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RT-qPCR	Gerçek zamanlı Ters Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu
S/P	Pozitif Karşı Numunenin Oranı
SAN	Spesifik Antikor Negatif
Sc	Derialtı
SPF	Spesifik Patojen Free
UK	Birleşik Krallık
vd	Ve Diğerleri
VN	Virüs Nötralizasyon
VP	Viral Protein
vv IBDV	Çok Virü lent İnfeksiyöz Bursal Hastalık Virüsü
WOAH	Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Şematik olarak infeksiyöz bursal hastalık virüsü ve genom organizasyonu	3
Şekil 1.2. Şematik olarak infeksiyöz bursal hastalık virüs genomu	3
Şekil 1.3. İnfeksiyöz bursal hastalık virüsünün genogruplara göre sınıflandırılması	4
Şekil 1.4. Vektör aşının şematize gösterimi	13
Şekil 1.5. İmmunkompleks yapının şematize olarak gösterilmesi	16
Şekil 2.1.A. Kümes- 9, 7.günlük yaştaki civcivler B. Kümes-10, 14 günlük yaştaki civcivler, C. Kümes-5 kesim yaştaki tavuklar, D. Kümes-2, 28 günlük yaştaki tavuklar	18
Şekil 2.2 A. Maternal antikorlar ve aşılama sonrası oluşan antikor yanıtın tespiti için kullanılan serolojik ELISA kiti B. Aşı virüsünün tespiti için kullanılan RT-qPCR kiti	20
Şekil 2.3. Aşının uygulaması	22
Şekil 2.4. Enjeksiyon başarısının kontrolü	22
Şekil 2.5. Bursa Fabricius ve dalak numunelerinin bursametre ile ölçümü	23
Şekil 2.6. A. Dalak numunelerinin hassas terazi ile tartımı B. Bursa Fabricius numunelerinin hassas terazi ile tartımı	24
Şekil 2.7. İndirekt ELISA’da pozitif plaka görüntüsü	26
Şekil 2.8. Kit üretici firmanın yazılımından alınan rapor	27
Şekil 3.1. Kuluçkahanelere göre enjeksiyon başarı kontrol bulguları	31
Şekil 3.2. Antikor titrelerinin 1.gün, 21.gün, ve kesim aşamasındaki değişimi-1	34
Şekil 3.3. Antikor titrelerinin 1.gün, 21.gün, ve kesim aşamasındaki değişimi-2	35
Şekil 3.4. A. Kümes-4’e ait bursa Fabricius RT-qPCR bulguları (7.gün), B. Kümes-3’e ait dalak RT-qPCR bulguları (28.gün), C. Kümes-6’ya ait dalak RT-q PCR bulguları (28.gün), D. Kümes-10’a ait bursa Fabricius RT-qPCR bulguları	36
Şekil 3.5. Kümeslerdeki günlere göre bursa Fabricius’ta aşı suşunun yüzde Değişimi	37
Şekil 3.6. Kümeslerdeki günlere göre dalakta aşı suşunun yüzde değişimi	37

ÇİZELGELER

Çizelge 2.1. Broiler kümesleri, kapasiteleri, bulunduğu coğrafi bölge, damızlık orjini ve kuluçkahaneler	17
Çizelge 2.2. Kümeslere ve sürü yaşlarına göre kullanılan kan serumu ve organ Numuneleri	19
Çizelge 2.3. Bursal skorlar ve karşılık geldiği bursa Fabricius çapları	23
Çizelge 2.4. Testin yorumlanmasındaki referans aralık değerleri	26
Çizelge 2.5. PCR karşım ve hacimleri	29
Çizelge 2.6. PCR reaksiyon koşulları	30
Çizelge 3.1. Ortalama bursa Fabricius skorları	32
Çizelge 3.2. Kümeslerin bursa Fabricius ve dalak ağırlıklarının vücut ağırlığına oranı	32
Çizelge 3.3. Broiler besi performans bulguları	33
Çizelge 3.4. Serolojik analiz bulguları	34
Çizelge 3.5. RT-qPCR bulguları	36

1. GİRİŞ

İnfeksiyöz Bursal Hastalık (IBD), genellikle altı haftadan küçük broiler, yumurtacı ve damızlık tavuklarda görülen ve tavukların bağışıklık sistemini etkisi altına alan akut bir hastalıktır (Dey vd., 2019). Hastalık, tavuklarda yüksek ölüm oranlarına neden olmaktadır. Ayrıca immunsupresyona yol açmakta ve antikor sentezinin azalmasına sebep olarak ikincil infeksiyonlara yatkınlığı artırmaktadır. Hastalığa, dünya çapında kanatlı endüstrisinde büyük ekonomik kayıplardan sorumlu olan IBD virüsü (IBDV) neden olmaktadır. Virüsün patojenitesi, antijenlerin organlardaki dağılımı ile direkt olarak ilişkilidir (Hussein vd., 2019). Hastalık tavuklar arasında oldukça bulaşıcıdır. Hastalık klinik ve subklinik olarak seyir göstermektedir. Tüylerde karışıklık, canlı ağırlık artışının azalması, ishal ve artan mortalite hastalığın klinik belirtileri arasında yer almaktadır. Subklinik seyrinde ise immunsupresyona bağlı olarak ikincil infeksiyonların neden olduğu kayıplarla karşılaşmaktadır. Tavuklar, klinik belirti gösteren tek konakçısıdır. Hastalığa tavuklar dışında hindi, ördek ve kaz gibi diğer kanatlılar da duyarlıdır (Etteradossi ve Saif, 2020; Sharma vd, 2000). Hastalık virüsle kontamine yem ve suyun fekal-oral yolla vücuda alınmasıyla doğal olarak şekillenmektedir. Deneysel çalışmalarda solunum mukozasının da virüsün bulaşmasında rol oynadığı bildirilmektedir (Orakpoghenor vd., 2020).

Hastalığın kontrolünde aşılama sıklıkla tercih edilen bir yöntemdir. Virüs çevre şartlarına da oldukça dirençlidir. Bu durum aşılamanın önemini artırmaktadır. Ancak aşılama stratejileri aşılamanın etkinliğini etkilemektedir. Aşı türü, aşının uygulama yolu, saha virüsünün varlığı ve virülansı, maternal antikor düzeyleri, aşılamanın etkinliğini etkileyen stratejilerin birkaçıdır (Akan, 2002; Müller vd., 2012).

Bu tez çalışması ile immunkompleks aşılamanın broiler hayvanlarda antikor yanıtın belirli haftalardaki değişimiyle birlikte en uygun hangi zaman diliminde serolojik izlemelerin yapılması gerektiği, maternal antikor düzeylerinin immunkompleks aşılama üzerindeki serolojik yanıtı ne kadar etkilediği ve İnfeksiyöz Bursal Hastalığı aşı virüsünün farklı zaman dilimlerinde hem bursa Fabricius'ta hem de dalakta saptanabilirliğinin karşılaştırılmasıdır. Ayrıca bu bilgilerle birlikte immunkompleks aşılamanın etkinliğinin izlenmesi noktasında kanatlı endüstrisine katkı sağlanması hedeflenmiştir.

1.1. Hastalığın Tarihçesi

İlk olarak 1957 yılında Albert S. Cosgrove, Amerika Birleşik Devletleri (ABD) Delaware eyaletinde, Delaware Kümes Hayvanları Laboratuvarlarında (DPL) çalışırken Gumboro bölgesi yakınlarındaki bir piliç çiftliğinde "avian nefrozis" olarak adlandırılan bir sendromu fark etmiştir (Cosgrove,1962). Hastalık etkeni ilk olarak Gumboro bölgesi yakınlarında tanımlanmıştır. Bu nedenle hastalık "Gumboro hastalığı" olarak anılmaktadır (Teshome vd., 2015). Etkenin immunsupresif özellikleri 1972 yılında ortaya konulmuştur (Etteradossi ve Saif, 2020). Enfeksiyöz Bursal Hastalık (IBD) ya da Gumboro hastalığının ortaya çıkmasını takip eden ilk yirmi yılda kanatlı endüstrisi ve bilim insanları arasındaki yakın iş birliği ile 1976 yılında hastalığın neden olduğu kayıplar aşılama ile etkili bir şekilde kontrol altına alınmıştır. Bununla birlikte, 1980'lerin ortasında Delaware varyantlarının tanınması ve 1989'dan itibaren Avrupa ve Asya'da hastalığın çok öldürücü suşlarının ortaya çıkması, IBD'nin devam eden önemini kanıtlamaktadır (Lasher ve Devis, 1997).

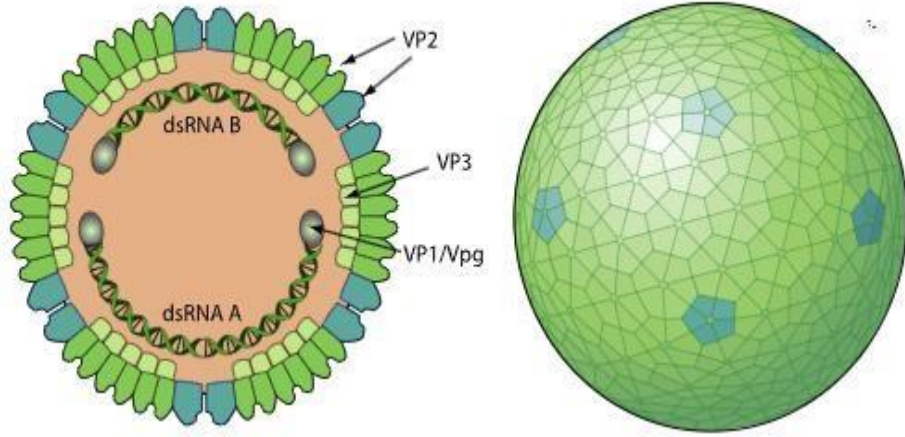
İlerleyen yıllarda IBDV enfeksiyonlarının kontrolü IBDV'nin varyant suşlarının tanınması nedeniyle karmaşık hale gelmiştir. Bu suşlar "klasik" suşlara karşı damızlık hayvanlardan gelen maternal bağışıklığı bloke etmesi ile klasik suşlardan ayrılmaktadır. 1980'lerin sonlarında Hollanda'da çok öldürücü IBDV suşları (vvIBDV) izole edilmiş ve vvIBDV suşları hızla Afrika, Asya ve Güney Amerika'ya yayılmıştır. 2008 yılının sonlarında bu varyantlar Amerika Birleşik Devletleri'nde de rapor edilmiştir (Etteradossi ve Saif, 2020).

Türkiye'de Gumboro hastalığı ilk olarak 1978 yılında Türkiye'nin güneyinde bir broiler sürüde serolojik olarak indirekt yolla tanımlanmıştır. Bu bildirimin ardından vakalar artmış ve 1990'lı yıllarda başlayan ve bir süre devam eden çok öldürücü Gumboro salgınları etkili olmuştur (Türe ve Çöven, 1999).

1.2. Hastalığın Etiyolojisi

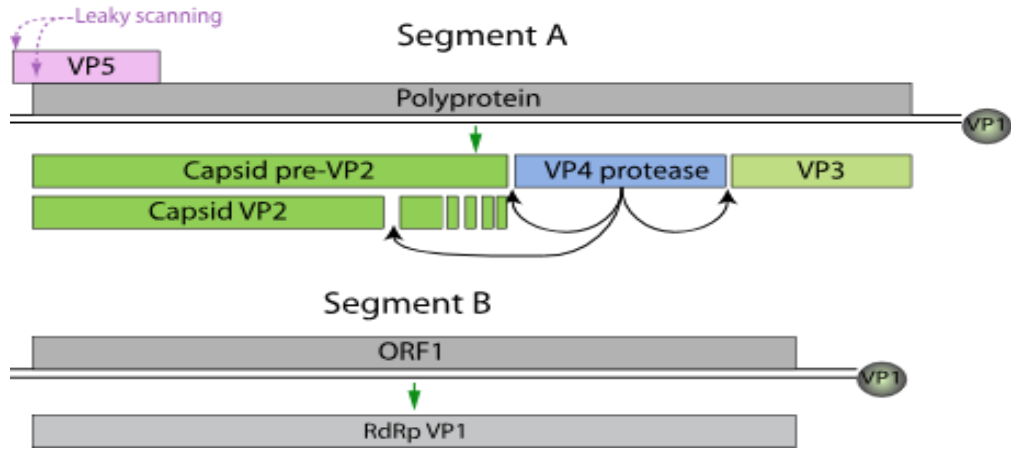
Hastalığa Enfeksiyöz Bursal Hastalık virüsü (IBDV), neden olmaktadır. Etken *Birnaviridae* familyasına ait *Avibirnavirus* cinsi içinde yer almaktadır. Çift iplikçikli bir RNA virüsüdür. Etken zarfsızdır. Şekil 1.1'de de görüldüğü gibi IBDV genomu, 60 nm çapında 32 kapsomer içeren ikozahedral simetriye sahiptir (Böttcher vd., 1997).

VIRION



Şekil 1.1. Şematik olarak infeksiyöz bursal hastalık virüsü ve genom organizasyonu (Taghavian, 2013)

Virüs genomunun A ve B olmak üzere iki segmenti bulunmaktadır. Bu segmentlerde toplam 5 adet viral protein (VP) bulunmaktadır. Şekil 1.2’de görüldüğü üzere çift segmentli genomun büyük olan A segmenti; VP2, VP3, VP4 ve VP5 viral proteinlerini kodlarken, daha küçük olan B segmenti RNA’ya bağımlı RNA polimerazı olan VP1’i kodlamaktadır (Etteradossi ve Saif, 2020).



Şekil 1.2. Şematik olarak infeksiyöz bursal hastalık virüs genomu (Taghavian, 2013)

Başlıca immunodominant epitopları içeren ve uyarıcı IBDV' nin bir kapsid proteini olan VP2, IBDV' ye karşı nötralizan antikorların üretimi sürecinde birincil öneme sahiptir. Bu alan, önemli hidrofilik tepe noktaları içerdiğinden sıklıkla mutasyonlara uğramaktadır (Vakharia vd., 1994). VP2 ve VP3 virionun ana yapısal proteinleridir. VP2'nin tavuklarda

1.3. Hastalığın Epidemiyolojisi

IBDV' nin konağa özgü olduğu, özellikle de tavuk ve hindilerin doğal konak olduğu bilinmektedir. Kontamine yem ve suyun tüketilmesi, kanatlılarda bu hastalığa yol açabildiğı gibi hastalık aynı zamanda devekuşları, güvercinler, Baltık ördekleri, ringa martıları ve serçeler gibi serbest yaşayan yabani kuşlarda da görülmektedir. İnfeksiyonun en yaygın bulaş yolu fekal-oral yol olmakla birlikte diğeri bir yaygın bulaş yolu da aerosol bulaşmadır (Orakpoghenor vd., 2020). Virüsün vertikal olarak bulaştığına dair bir bildirim bulunmamaktadır. Hastalık infekte tavukların dışkılarıyla yaklaşık 15 gün saçılmaktadır. Saçılan virüs kümesi ekipmanları, altlık, kümesi tozu gibi kontamine alanlarda uzun süre bulaşıcılık potansiyelini korumaktadır (Eterradossi ve Saif, 2020; Van den Berg, 2008). Virüs kümesi çevresinde 122 gün sonra bile saptanabilmektedir. Kontamine kümeden alınan altlık, dışkı, yem ve sudan 52 gün sonra dahi virüsün infektif özelliğini kaybetmediğı belirtilmektedir (Müller vd., 2012).

Bursa Fabricius gelişiminin maksimum aşamasında olan üç ila altı haftalık tavuklar, IBDV enfeksiyonuna duyarlıdır. Üç haftadan küçük tavuklarda anneden gelen antikorların ya da diğeri adıyla maternal antikorların hastalığa karşı korumada rol oynadığı düşünüldüğü için hastalık bulguları üç haftadan küçük tavuklarda görülmemektedir (Mahgoub, 2012). Hastalık duyarlı sürülerde yüksek morbidite (%100'e kadar) ve değişken (%2-30) mortalite ile seyretmektedir (Dačić vd., 2008). Tavuklarda mortalite oranları, IBDV' nin virölansı, enfeksiyonun dozu, tavukların yaşı ve ırkı, ayrıca pasif bağışıklık gibi birçok faktör tarafından belirlenmektedir (Ingrao vd., 2013).

Nuradji vd. (2021) yaptıkları bir çalışmada ısı ve dezenfektanların IBDV canlılığı üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Elde edilen sonuçlara göre, virüsün 80°C'de 120 dakikada, 56°C'de 30 dakikada inaktive olduğı görülmüştür. Virüsün, kümesi temizlik ve dezenfeksiyonu için kullanılan kimyasallara karşı oldukça dirençli olduğı bildirilmiştir (Akan, 2002).

1.4. Hastalığın Klinik ve Makroskobik Bulguları

Hastalığın inkübasyon süresi oldukça kısa olup hastalığın klinik belirtileri etkene maruziyetten yaklaşık iki ila üç gün içinde ortaya çıkmaktadır (Eterradossi ve Saif, 2020). Hastalığın semptomları subklinik ve klinik olarak iki formda ortaya çıkmaktadır. Subklinik

form genellikle üç haftadan önce infekte olan civcivlerde gözlenmektedir. Bursa Fabricius'ta meydana gelen yangısal patolojiler sonrasında hayvanlarda kalıcı immunsupresyon gözlenmektedir. Kalıcı immunsupresyon sonucunda ikincil infeksiyonlara (bakteriyel, viral ve protozoer) karşı duyarlılık artmaktadır. Ayrıca uygulanan aşılarla karşı beklenen düzeyden daha düşük immünite oluşmaktadır. Kalıcı immunsupresyon sonucunda sürülerde performans kayıpları da görülmektedir (Akan, 2002). Klinik formda ise IBDV ile enfekte sürülerde morbidite %100'e ulaşabilmektedir. Mortalite oranları ise oldukça değişkendir. Ancak virüsün virülansına bağlı olarak %90'a kadar çıkabilmektedir. En şiddetli klinik bulgular, bursa Fabricius'un maksimum gelişim aşamasına yaklaştığı üç ila altı haftalık civcivlerde görülmektedir (Mahgoub, 2012). Klinik bulgular tüylerde karışıklık, bağırsak mukus miktarında artış, sulu ve beyaz ishal, hareketsizlik, anoreksi, canlı ağırlık artışında azalma ve titreme olarak kendini göstermektedir (Van den Berg, 2000).

Makroskobik olarak tavuklarda sıvı kaybı göze çarpan ilk bulgudur. Genellikle femoral ve pektoral kaslarda kanamalar görülmektedir. Bursa Fabricius'ta kanama ve ödem dikkati çeken bir diğer bulgudur. Dalakta, proventrikülüs ile taşlık arasındaki geçiş bölümünde ve sekal tonsillerde kanama da virüsün virülansına bağlı olarak gözlenmektedir. İnfeksiyonun vücuda alınmasından iki ila üç gün sonra bursa Fabricius'ta sarımsı bir transudatın neden olduğu ödem ve büyüme gözlenmekte, beş ila altıncı günler arasında bursa Fabricius'un normal boyutlarına döndüğü ve birinci haftanın sonunda ise bursa Fabricius'ta şiddetli kanama ve atrofinin olduğu dikkati çekmektedir. Tüm bu bulguların yanı sıra böbreklerde ödemin olduğu nefrozis tablosu da gözlenmektedir (Eterradossi ve Saif, 2020; Jackwood, 2015).

Mikroskobik olarak, lenfositlerin dejenerasyonu ve nekrozu bursal foliküllerin medüller bölgesinde kısa sürede erken bir zamanda başlamaktadır (Luque vd., 2007). Lenfositlerin yerini heterofiller almaktadır. İnfeksiyondan sonraki üçüncü veya dördüncü günde tüm lenfoid foliküller etkilenmektedir. Şiddetli ödem, hiperemi ve heterofil birikimi belirgindir ve bunlar bursal ağırlığın artmasına neden olmaktadır. Foliküler medullada kistik boşluklar gelişmektedir. Bu kistik boşluklara heterofiller ve plazma hücrelerinin nekroz ve fagositozları neden olmaktadır. Bursal atrofi aşamasında bursal dokunun fibroplazisi belirgin hale gelmektedir. Geç aşamalarda, fonksiyonel folikül oluşturma yeteneği olmayan dağınık lenfosit odakları ortaya çıkmaktadır. Tüm bu süreçler B hücrelerinin depleksiyonuna neden olarak antikor sentezini olumsuz etkilemektedir. Dolayısıyla tavuklar sekonder infeksiyonlara karşı savunmasız hale gelerek başta bakteriyel

infeksiyonların sıklığında artış görülmektedir. Ayrıca uygulanan aşılamalardan sonra hedeflenenenden daha düşük humoral bağışıklıkla karşılaşmaktadır (Eterradossi ve Saif, 2020; Mahgoub, 2012; Orakpoghenor vd., 2020).

1.5. Hastalığın Patogenezi

Virüsün oral yolla alınmasının ardından virüs bağırsakla ilişkili makrofajlarda ve lenfoid hücrelerde çoğalmaktadır (Murphy, 1999). Virüs yaklaşık dört saat sonra sekumda yer alan makrofajlarda saptanmaktadır. Viremi ve portal dolaşımın etkisiyle yaklaşık beş saat sonra ise karaciğerdeki makrofajlarda etken saptanabilmektedir. Birincil vireminin ardından etken hedef doku bursa Fabricius'a ulaşmaktadır. Etkenin vücuda alınmasından yaklaşık bir gün sonra hedef organa ulaştığı bilinmektedir. Bursa Fabricius'ta IBDV'nin replikasyonun ardından ikincil viremiyle virüs diğer dokulara ulaşmaktadır (Dey vd., 2019; Eterradossi ve Saif, 2020). Bursa Fabricius'a ulaşan virüs, replike olurken olgunlaşmamış B hücrelerini yıkımlamaktadır. IgM sentezleyen B lenfositlerinin dejenerasyonu ve nekrozu gerçekleşmektedir. Nekroze alanlara heterofiller birikmektedir (Dey vd., 2019; Ingrao vd., 2013; Li vd., 2012).

Hastalığın patogenezinde apoptozis mekanizması önemli rol oynamaktadır. B lenfositlerinin dejenerasyonu ve nekrozu apoptozis mekanizmasıyla gerçekleşmektedir. İnfekte tavukların periferik kan lenfositlerinde yüksek düzeyde apoptoz kanıtlanabilmektedir. Viral proteinlerden olan VP2 ve VP5 apoptozisi tetikleyerek hücre ölümüne yol açtığı kanıtlanmıştır (Fernandez-Arias vd., 1998; Liu ve Vakharia, 2006).

Dalak, böbrek, karaciğer ve sekal tonsillerde de viral antijenler saptanabilmektedir. Ancak T hücreleri IBDV enfeksiyonuna karşı dirençlidir. Enfeksiyonun akut fazında timusta yer alan timositlerde belirgin atrofi ve yoğun apoptoz meydana gelse de virüsün aslında timik hücrelerde çoğaldığına dair hiçbir kanıt bulunmamaktadır. Timustaki makroskobik ve mikroskobik lezyonlar hızla normalleşmekte ve virüs enfeksiyonundan birkaç gün sonra timus doğal durumuna dönmektedir (Sharma vd., 2000). Genellikle hastalığın akut dönemi 7-10 gün arasında sürmektedir. Hastalığın şiddeti doğrudan bursa Fabricius'ta bulunan B hücrelerinin sayılarıyla ilişkilidir. Hastalıktan sonra nötralize edici antikorlar 12 gün sonra saptanabilmiştir (Akan, 2002).

Hastalığı atlatan tavuklarda bursa Fabricius'ta B hücrelerinin yeniden popülasyonu meydana gelmektedir. Bu yeniden meydana gelen popülasyon folikül tipine göre iki şekilde şekillenmektedir. Birincisi endojen kök hücrelerden köken alan yeni uzun foliküller ikincisi ise meydana gelen hasar nedeniyle medulla ve korteksi olmayan az gelişmiş foliküller şeklindedir (Withers vd., 2005).

Hastalığa karşı sadece humoral bağışıklık etkin değildir. T hücrelerinin görev aldığı hücresel bağışıklık da hastalığa karşı oluşacak immünitede rol oynamaktadır. İnfekte Ig M ve B hücreleri, yardımcı T lenfositleri ve sitotoksik T lenfositlerinin hedefidir (Dey vd., 2019).

1.6. Hastalığın Teşhisi

Hastalığın teşhisinde klinik ve makroskopik bulgular, virüs izolasyonu, immunohistokimyasal boyamalar, serolojik ve moleküler testler kullanılmaktadır (Stoute vd., 2009). Hastalığın klinik ve makroskopik bulguları fikir verici olsa da kesin tanıya ulaşılması için laboratuvar testlerinden yardım alınmalıdır. Hastalığın çok hızlı ilerlemesi, çok bulaşıcı olması, artan ölümün ardından yaklaşık bir haftada ölüm oranlarının azalarak sonlanması hastalığın klasik seyrini tanımlamaktadır. Klinik semptomların yanı sıra makroskopik olarak bursa Fabricius'ta gözlenen bulgular da tanıya yardımcı olmaktadır. Bursa Fabricius'da ödem ve transudat, kanama ve atrofi hastalığın ayırt edici bulguları arasındadır. Ancak hastalığın bulguları bazı viral, bakteriyel ve protozoer hastalık bulgularıyla karışabileceğinden kesin tanı için mutlaka laboratuvar testlerinden destek alınmalıdır (Akan, 2002; Gelb vd., 2012).

IBDV'nin izolasyonu genellikle spesifik antikor negatif (SAN) tavuklar, hücre kültürleri ya da spesifik patojen içermeyen (SPF) embriyolu yumurtalar kullanılarak gerçekleştirilmektedir (WOAH, 2024). Bursa Fabricius ya da dalaktan hazırlanan inokulum virüs izolasyonu için sıklıkla tercih edilmektedir. Genellikle şüpheli materyal 9-11 günlük embriyolu tavuk yumurtasının (ETY), koriyoallantoik membranına (CAM) ekilmektedir. İnokulasyondan üç ila beş gün sonra infekte embriyolar ölmektedir. Embriyoda ödem, karaciğerde ve dalakta büyüme, solgunluk ve nekrotik alanlar dikkati çekmektedir (Akan, 2002; Rosenberger vd., 2008).

Virüsten etkilenen organ ve dokuların histopatolojik ve immünohistokimyasal tekniklerle incelenmesi hastalığın hem teşhisine yardımcı olmakta hem de hastalığın

patogenezi aydınlatmaktadır. Bursa Fabricius, dalak, böbrek ve proventrikül-taşıklık geçiş bölgesi sıklıkla kullanılmaktadır. B hücre deplesyonu, bursal foliküllerde medullar bölgede kistik değişiklikler hastalığın histopatolojik tanısı için önemli olmaktadır. İmmunohistokimyasal tekniklerle ise bursa Fabricius'ta lezyonlu bölgelerde viral antijenlerin yoğun olarak görülmesi hastalığın teşhisine destek olmaktadır (Singh vd., 2015).

Hastalığın serolojik olarak teşhisinde; Agar jel immunodiffüzyon (AGID), Virüs Nötralizasyon (VN) ve ELISA kullanılmaktadır. Serolojik testler arasında en pratik olan AGID testidir. Ancak duyarlılığı ve özgüllüğü laboratuvarlar arasında farklılık gösterebilmektedir. VN en yüksek özgüllüğe sahip olsa da test oldukça zahmetlidir. Ayrıca bir viroloji laboratuvarının olanaklarını gerektirmektedir. Dolayısıyla rutin kullanım için pratik değildir (Dey vd., 2019). ELISA, ekonomik olması ve çok sayıda numuneyi hızlı bir şekilde test edebilmesi nedeniyle IBDV' yi tespit etmek için en sık kullanılan yöntemdir. Günümüzde ELISA, AGID ve VN' ye göre daha sıklıkla tercih edilmektedir. Hem hastalıktan sonra oluşan antikorların hem de aşılamalardan sonra oluşan antikorların tespitinde pratik olarak kullanılmaktadır. Ayrıca virüsün farklı viral proteinlerine yönelik oluşan antikorların teşhisine de olanak sağlamaktadır. Bu durum rekombinant aşılamalardan sonra oluşan spesifik antikor yanıtın saptanmasını kolaylaştırmaktadır (Dey vd., 2019; WOA, 2024).

Moleküler yöntemler diğer analizlere göre daha hızlı, daha duyarlı ve daha az zahmetli olma gibi avantajlara sahiptir. Konvansiyonel revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR), real time RT-PCR, multipleks RT-PCR ve döngü aracılı izotermal amplifikasyon (LAMP) sıklıkla kullanılan moleküler testler arasındadır (Etteradossi ve Saif, 2020; Islam vd., 2013). Hem varyant hem de vvIBDV suşları, klasik alt tipe göre VP2 çok değişken bölgesinde karakteristik amino asit yapısına sahiptir ve bunlar, RT-PCR ve sekanslama yöntemleri ile hızlı bir şekilde tespit edilebilmektedir (Aliy vd., 2020).

Tür tanımlaması, virüsleri antijenik ve patojenik türlerle ilişkili moleküler gruplara ayırabilen çeşitli RT-PCR sonrası analizler kullanılarak gerçekleştirilebilmektedir. Moleküler tespitten ardından DNA dizilimi ve filogenetik analiz, potansiyel IBDV suşları ile saha suşlarını karşılaştırmalı analiz etme ve virüsün evrimsel sürecinin anlaşılmasında önemlidir. Bu nedenle PCR bazlı moleküler tanı araçları, virüs teşhisinde ve IBDV'nin farklı suşlarının tanımlanmasında daha duyarlı ve etkilidir (Jackwood, 2004).

Son yıllarda aşılamalardan sonra aşı suşunun hedef organlarda tespiti için de sıklıkla real-time RT-PCR analizleri tercih edilmekte ve erken dönemde aşılama başarısı hakkında detaylı bilgiler sağlamaktadır (Rojs vd., 2011). Ivan vd. (2005) IBD'ye karşı uygulanan immunkompleks aşılarda ters transkriptaz-Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) kullanarak SPF ve etlik piliçlerin dokularındaki IBD viral RNA'sının dağılımını belirlemiş ve pozitif organların viral yükünü gerçek zamanlı olarak karşılaştırmışlardır.

1.7. Hastalıktan Korunma ve Kontrol

Virüsün çevresel koşullara oldukça dayanaklı olması hastalığın kontrolünü zorlaştırmaktadır (Müller vd., 2012). IBD' den korunmak için öncelikle biyogüvenlik uygulamaları titizlikle uygulanmalıdır. Etkili uygulanan temizlik ve dezenfeksiyon virüs yükünü düşürmekte dolayısıyla bulaşma riskini de azaltabilmektedir. Ancak korunma ve kontrol için tek başına yeterli değildir (Van den Berg, 2008). Ayrıca hastalığın kontrolünde haşere ve kemirgenlerin kontrolü de önemli olmaktadır. Hastalık teşhisinin yapıldığı kümeslerden diğer kümeslere bulaşmanın engellenmesi için insan ve kümes ekipmanı hareketlerinin olabildiğince kontrol altına alınması hastalığın kontrolünde dikkat edilmesi gereken hususlar arasındadır (Dey vd., 2019). Tüm bu uygulamalar hastalığın kontrolü için yardımcı ve gerekli hususlar olsa da mutlak koruma aşılama ile sağlanabilmektedir ve aşılama olmadan vvIBDV infeksiyonlarıyla mücadele düşünülememektedir (Müller vd., 2012). Hastalıktan korunmaya yönelik ilk immunizasyon çalışmaları geçmiş yıllarda civcivleri etkene maruz bırakmaya dayanmaktadır. Bu yöntem hastalığa bağlı ölüm oranlarını azaltsa da immunsupresyona sebep olmakta ve virüsün saçılımına neden olmaktadır (Akan, 2002). Bu yöntemin dezavantajlarından dolayı SPF tavukların ETY' lerde virüsün seri pasajlanmasıyla zayıflatılmış suşlar, aşılamalarda kullanılmıştır. Bu yöntemler 1980'li yıllara kadar devam etse de virüsün farklı varyantlarının ortaya çıkması hastalığın kontrolünü zorlaştırmış ve tüm dünyada salgınların artması uygulanan immunizasyon yöntemlerinin yetersiz olduğunu göstermiştir. Bu kontrol altına alınamayanlar salgınlar ile mücadelede farklı aşılama stratejilerin geliştirilmesi gereksinimi oluşmuştur. Hastalığın erken dönemde immunsupresif etkilerinin ortadan kaldırılması ancak maternal antikorlar (MDA) ile başarılabilmektedir. Koruyucu düzeyde MDA için damızlık tavukların uygun aşılama programına göre aşılması gerekmektedir (Etteradossi ve Saif, 2020). Hastalığa yönelik aşılama stratejileri aşılarda etkinliğini etkilemektedir. Aşının uygulama yolu, saha virüsünün varlığı ve virülensi, maternal antikor düzeyleri ve uygulanan aşının üretim tekniği ve teknolojisi, aşılarda etkinliğini etkileyen stratejilerin birkaçıdır (Akan, 2002; Akan ve Sareyyüpoğlu, 2006; Müller vd., 2012).

Hastalığa yönelik aşılama yöntemleri sprey, içme suyu, civcivlere enjeksiyon ve yumurta içine enjeksiyon (in ovo) olarak uygulanabilmektedir (Corley vd., 2001). Aşılamaya uygulamaları yapılmadan önce mutlaka bölgedeki saha virüsü varlığı bilinmeli, teşhis edilen virüsün moleküler karakterizasyonu ve filogenetik analizi yapılarak kullanılan aşılardan saha virüsünün uyumu gözden geçirilmelidir (Rojas vd., 2011). Günümüzde kanatlı endüstrisinde damızlık tavuklarda uygulanan aşılamaya stratejileri nedeniyle civcivler IBDV' ye karşı maternal antikorlara sahip olarak yumurtadan çıkmaktadır. Maternal antikorlar ilk haftalarda civcivleri hastalığa karşı korurken da uygulanan bazı aşılardan hedeflenen immüniteye ulaşamamasına neden olmaktadır. Saha koşulları altında, IBDV' ye karşı maternal antikorların yarılanma ömürlerinin değişken olduğu belirtilmektedir. Maternal antikorların yarılanma ömürleri civcivlerin çıkımının gerçekleştiği kuluçka şartlarına bağlı olabileceğinden dolayı civcivler arasında farklılık oluşmaktadır. Bu durum da aşılamaya uygulanacağı optimal zamanın belirlenmesini zorlaştırmaktadır (de Wit, 2001). Bu nedenle son yıllarda maternal antikorlardan etkilenmeyen aşılamaya teknolojileri üzerinde çalışmalar yoğunlaşmaktadır (Rautenschlein vd., 2005).

1.7.1. Canlı Aşılardan

Canlı viral aşılardan hedef konaktaki enfeksiyonu taklit ederek immunizasyon sağlamaktadır. Hem hücresel hem de humoral bağışıklığı uyarabilmektedirler. Etkili olmaları için bir adjuvandan ihtiyaç duymazlar ve sürü aşılamaları için de uygundur. Ancak aynı zamanda istenmeyen yan etkilere de sahip olabilmektedirler. Bunlar arasında aşı virüsünün saçılması, yeniden virülans özellik kazanması, performans kayıpları ve aşı reaksiyonları sayılabilmektedir. Genel olarak kanatlı endüstrisi tarafından kullanılan canlı IBDV aşılardan, aşının virülans özellikleri zayıflatılarak üretilmektedir. Aşılardan ana virüsün neden olduğu bağışıklık tepkisini sürdürmek amacıyla doku kültüründe, yumurtalarda veya embriyodan üretilmiş dokularda seri pasajlama yoluyla zayıflatılmıştır (Schijns vd., 2008). Klasik canlı IBDV aşılardan birçoğu, klasik virulent suşlara dayanmaktadır. Bu kategoriye giren aşılardan meydana getirdiği lezyonlara ve antijenik uyarım gücüne göre "mild", "intermediate" ve "intermediate plus (hot)" aşılardan sınıflandırılmaktadırlar. Mild aşılardan bursal lezyonlara neden olmasa da maternal antikor varlığında etkisi oldukça düşüktür. Intermediate ve intermediate plus (hot) aşılardan mild aşılardan göre daha iyi immunizasyon sağlama yeteneğine sahiptir. Ayrıca damızlıklardan gelen yüksek düzeydeki maternal antikorları nötrazile edebilmektedirler. Ancak orta ila şiddetli bursal lezyonlara neden olabilmektedir. Dolayısıyla aşılamaya bağlı immünsupresyona, B hücre depleksiyonuna ve performans kayıplarına neden

olabilmektedirler (Kumar vd., 2000; Mazariegos vd., 1990; Rautenschlein vd., 2005 Tsukamoto vd., 1995).

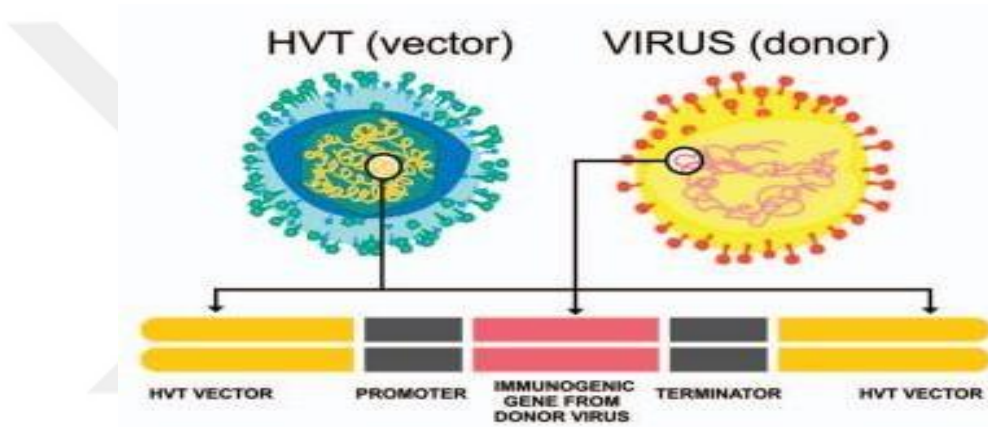
1.7.2. İnaktif Aşılar

İnaktif IBD aşıları çoğunlukla yağ adjuvantlı olarak formüle edilmektedir. Tek başına ya da farklı antijenle birlikte uygulanmaktadır. İnaktive edilmiş IBD aşılarının aynı zamanda tavuklarda IBDV' ye özgü T hücresi ve inflamatuvar yanıtları uyarabildiği de gözlemlenmiştir (Rautenschlein vd., 2002). Son yıllarda varyant IBDV suşlarının neden olduğu enfeksiyonlardan korunmak için inaktif aşıların ya yüksek dozda uygulanması ya da varyant IBDV suşlarına göre optimize edilmesi gerektiği rapor edilmiştir (Müller vd., 1992; Rosenberger vd., 1987). Bu aşılarla immünite oluşturabilmek için tekrar dozlarının yapılması gerekmektedir. Bu durum hem maliyet hem de iş gücü açısından bir dezavantaj olarak görülmektedir (Wyeth, 1990). İnaktif aşıların daha önce primer immün yanıt oluşmamış sürülerde immunizasyon oluşturma yeteneği düşük olduğundan, genellikle canlı aşılar sonrasında sürüde antikor düzeylerinin daha uniform hale getirilmesinde kullanılmaktadırlar (Akan, 2002).

1.7.3. Rekombinant Vektör Aşılar

Geçmişten günümüze IBDV'ye karşı uygulanan canlı aşıların yoğun kullanımının, potansiyel mutasyonlar nedeniyle bu patojeni artan virülansa sürükleyebileceğine dair artan bir endişe bulunmaktadır. Canlı ve inaktif aşıların sahip olduğu dezavantajlardan dolayı spesifik patojen antijenlerini kodlayan bir veya daha fazla genin rekombinant DNA aşısı tarafından ifade edildiği rekombinant aşıların geliştirilmesine olan ilginin artmasına neden olmuştur. Rekombinant aşılar koruyucu antijenlerin sağlanmasında çeşitli avantajlar sunmaktadırlar. Bu aşılar, kodladıkları antijenlerin kendi doğal yapılarında üretilmesi ve büyük doku uyumu kompleksi (MHC) sınıf I ve sınıf II bağlamında sunulması sağlayarak immunizasyon oluşturmaktadır. Kısaca doğal bir viral enfeksiyonu taklit etmektedir. Ayrıca çok bileşenli aşıların tek dozda uygulanması da mümkündür. Enjeksiyon bölgesi reaksiyonlarına dair bir kanıt bulunmamaktadır. Virüsün virülans özellik kazandığına dair de herhangi bir risk bulunmamaktadır. Maternal antikorlardan ise minimum düzeyde etkilenmektedirler (Mahgoub, 2012).

Vektör aşıları, her iki organizmaya karşı koruyucu bir bağışıklık tepkisi oluşturmak için bir organizmadan (donör) gelen bir genin başka bir organizmanın (vektör) genomuna yerleştirildiği, genetiği değiştirilmiş aşılardır (Şekil 1.4). Vektörler arasında “fowlpox virus” (Heine ve Boyle, 1993), Newcastle hastalığı virüsü (Huang vd., 2004), hindi herpes virüsü (HVT) (Darteil vd., 1995), “fowladenovirus” (Francois vd., 2004) ve T4 bakteriyofajı (Cao vd., 2005), IBDV' ye karşı bağışıklık tepkisini uyaran antijen olan VP2'yi eksprese etmek için vektör virüsleri olarak kullanılmıştır. HVT onlarca yıldır Marek hastalığına karşı güvenli ve etkili bir aşı olarak kullanılmaktadır. En sıklıkla maternal antikorlarla etkileşime karşı duyarlılığı zayıf olduğundan HVT, IBD için bir vektör olarak sıklıkla kullanılmaktadır (Darteil vd., 1995; Tsukamoto vd., 2002).



Şekil 1.4. Vektör aşının şematize gösterimi (Hein vd., 2021)

1.7.4. Subunit Aşılar

Son yıllarda IBD'ye karşı immunizasyon çalışmalarında genellikle virüsün koruyucu antijeni ve viral yapısal proteini olan VP2'nin viral ekspresyonu üzerinde durulmuştur. Ancak denatüre halde bulunan VP2, tavuklarda koruma sağlamamaktadır (Fahey vd., 1989). Farklı ekspresyon sistemlerinde ya tek başına VP2 kodlama bölgesi ya da poliprotein geni kullanılmasının ardından saflaştırılarak elde edilen üretilen aşı subunit aşının temelini oluşturmaktadır (Martinez-Torrecuadrada vd., 2003). Ekspresyon sistemi olarak Escherichia coli (Rong vd., 2007), maya (Fahey vd., 1991), fowlpoxvirus (Bayliss vd., 1991; Heine ve Boyle, 1993), bakulovirus (Vakharia vd., 1993) ve bitki ekspresyon sistemleri (Wu vd., 2004) kullanılmıştır. İmmünojeniteyi arttırdığı düşünülen VP2 ve tavuk interlökin-2'den oluşan bir füzyon proteini geliştirilmiş ve potansiyel bir aşı olarak test edilmiştir (Liu vd., 2005). Bugüne kadar, bazı ülkelerde VP2 alt birimini temel alan üç subunit aşı piyasaya

sürülmüştür. İnaktif aşılar da olduğu tekrar aşılama gereklilikleri bu tür aşıların dezavantajları arasındadır. Tek başına VP2'nin ekspresyonuna dayanan rekombinant subunit aşılar, aşılanmış sürüleri enfekte olanlardan ayırt etmek için kullanılan DIVA stratejisinin kullanılmasına da olanak sağlamaktadır (Müller vd., 2012).

1.7.5. İmmunkompleks Aşılar

Yeni bir aşı yaklaşımı, bağışıklık kompleksi aşılarının oluşturulmasıdır. İmmunkomplekslerin (Icx) bellek B hücresi oluşumu ve afinite olgunlaşmasındaki rolü, bu komplekslerin aşı olarak potansiyel kullanımına olanak tanımaktadır. İmmunkompleks aşılar Şekil 1.5'te görüldüğü gibi hiperimmunize tavukların kan serumlarından ya da yumurta sarısından elde edilen belirli miktarlardaki spesifik antikorun canlı IBDV ile in-vitro ortamda belli oranlarda karıştırılmasıyla formüle edilmektedir (Jeurissen vd., 1998). Elde edilen antijen-antikor kompleksi enjeksiyon olarak civcivlere verildiğinde bu komplekslerdeki antijenlerin doğrudan antijen işleyen hücreleri hedef aldığı bilinmektedir. Böylelikle humoral ve hücrel bağışıklık meydana gelmektedir. İmmunkompleks yapının küçük bir bölümü foliküler dentritik hücrelerin Fc- reseptörlerine tutunmaktadır. İmmunkompleks yapı bir süre bu şekilde korunabilmektedir. Bu mekanizma ile doğal enfeksiyon taklit edilmektedir. Ancak meydana gelen humoral bağışıklık doğal enfeksiyondan yaklaşık 100 kat daha fazla olmaktadır (Jeurissen vd., 1998; Tang vd., 2021).

Aşı virüsü hedef organ bursa Fabricius'a gittiğinde yarışmacı dışlamayı sağlayarak saha virüsünün bursa Fabricius'u enfekte etmesini engellemektedir. Yapılan immunohistokimyasal boyama temelli çalışmalarda immunkompleks yapının ilk olarak dalaktaki germinal merkezlerde bulunduğu ve virüs-antijen yapısının bir süre bu organda kaldığı belirtilmiştir (Jeurissen vd., 1998).

Maternal anitkora sahip civcivlerin birinci günde immunkompleks aşılar ile aşılanmasının ardından civcivlerde 21-28.günde antikor yanıtı oluşmaktadır (Whittril vd., 1995).

İmmunkompleks aşıların en büyük avantajı, başlangıçta vektör aşılar için kullanılan ticari yumurta enjeksiyon makineleriyle kuluçkalama süresinin 18. gününde in ovo aşılama uygun olmalarıdır. Alternatif olarak, immunkompleks aşıları kuluçkahanede civcivlere bir günlükken deri altı enjeksiyon yoluyla verilebilmektedir (Ivan vd., 2005).

Ayrıca bu aşların maternal antikorların varlığında da etkili olduğu gösterilmiştir (Giambrone vd., 2001; Haddad vd., 1997). İmmunkompleks aşlar klasik aşılarla göre daha otomatize ve sistematik bir uygulamaya olanak sağlamaktadır. Ayrıca immunkompleks aşlarının deneysel etkinliği, en az canlı IBDV aşılarıyla aşılamadan sonra elde edilen antikor yanıt kadardır. Jeurissen vd. (1998) yaptıkları çalışmada aşının çalışma mekanizmasını anlamaya çalışmışlardır. Bu çalışma kapsamında in ovo enjeksiyonundan sonra çeşitli zaman dilimlerinde immunkompleks aşı ve klasik virüsün enfektivitesi karşılaştırılmıştır. Her iki aşıda da IBDV, bursa Fabricius'da ve dalaktaki B lenfositleri, makrofajlar ve foliküler dendritik hücrelerle ilişkilendirilmiştir. Ancak immunkompleks aşıda bulunan antijenin spesifik antikorlarla kompleks oluşturması, virüs tespitinde yaklaşık beş günlük bir gecikmeye neden olmuştur. Bu durum maternal antikorlar ile ilişkilendirilmiş ve farklı maternal antikor seviyelerine sahip civcivlerde aşı virüsünün farklı zamanlarda çoğalmaya başlayacağı düşünülmüştür.

Başka bir çalışmada (Ivan vd., 2005), SPF civcivler ile maternal antikora sahip civcivleri karşılaştırmışlardır. Her iki grup da immunkompleks aşlar ile aşılanmıştır. SPF tavuklarda 14.günde bursa Fabricius'ta aşı suşu saptanırken, maternal antikora sahip civcivlerde 21. günde bursa Fabricius'ta aşı suşu saptanmıştır. Deneysel olarak immunkompleks ile aşılanan tavuklarda B lenfositlerindeki deplesyon oldukça düşük düzeylerde kalmıştır (Jeurissen vd., 1998).

Değişken seviyelerdeki maternal antikorlar ve kanatlı endüstrisindeki farklı operasyonel koşullar nedeniyle evrensel bir aşılama programı sunulamamaktadır. Canlı aşılar 7-21 gün arasında maternal antikor düzeylerine bağlı olarak uygulanabilmektedir. Eğer civcivler bir günlükken aşılanmak isteniyorsa rekombinant vektör ya da immunkompleks aşılar tercih edilmektedir (Eterradossi ve Saif, 2020).

Hastalığın tedavisine yönelik etkili bir terapötik ya da destekleyici tedavi bulunmamaktadır (Eterradossi ve Saif, 2020). Pasif olarak aktarılan antikorun enfeksiyondan sonra intraperitoneal olarak enjekte edildiği deneysel immunoterapi yöntemleri klinik belirti gösteren hayvanların sayısını azaltmıştır (Malik vd., 2006).



Şekil 1.5. İmmunkompleks yapının şematize olarak gösterilmesi (Wang vd., 2019)

Bu tez çalışmasının amacı İnfeksiyöz Bursal Hastalığa karşı immunkompleks aşıyla aşılanan broiler hayvanların farklı haftalardaki antikor düzeylerinin serolojik yanıtı etkisinin karşılaştırılması ve aşıların farklı maternal antikor düzeylerinde etkinliğinin ELISA ile belirlenmesidir. Ayrıca farklı haftalarda bursa Fabricius ve dalak numunelerinde infeksiyöz bursal hastalığı virüsünün kantitatif RT-qPCR ile tespiti ve karşılaştırılması çalışmanın bir diğer amacıdır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Broiler Kümesleri

Çalışma iki farklı coğrafi bölgede yer alan, yedi farklı damızlık orijinine sahip ve iki farklı kuluçkahanede çıkımları gerçekleşen toplam 450.008 adet Ross 308 broiler civcivin sevk edildiği 10 farklı broiler kümesinde gerçekleştirildi (Şekil 2.1). Üretim süreci boyunca bakım ve besleme koşulları entegrasyonların rutin süreçleri dahilinde gerçekleştirildi. Kümeslerin kapasiteleri ve yer aldığı coğrafi bölgeler Çizelge 2. 1.'de sunulmuştur.

Çizelge 2.1. Broiler kümesleri, kapasiteleri, bulunduğu coğrafi bölge, damızlık orjinleri ve kuluçkahaneler

Kümes	Kapasite	Coğrafi Bölge	Damızlık	Kuluçkahane
Kümes-1	91.920	Ege Bölgesi	Damızlık-1	Kuluçkahane-1
Kümes-2	44.000		Damızlık-2	
Kümes-3	30.240		Damızlık-3	
Kümes-4	30.240		Damızlık-2	
Kümes-5	72.000		Damızlık-4	
Kümes-6	34.560	Marmara Bölgesi	Damızlık-5	Kuluçkahane-2
Kümes-7	41.040		Damızlık-6	
Kümes-8	27.520		Damızlık-7	
Kümes-9	31.040		Damızlık-5	
Kümes-10	47.520		Damızlık-5	

2.1.2. Aşı

Çalışma kapsamında immunkompleks aşı (Gumbohatch®, Hipra, Spain) kullanıldı. Aşı, zayıflatılmış canlı IBDV virüsü ($10^{1.48}$ - $10^{2.63}$ partikül) ve bu antijenlerle tamamen bağlanan aşıtlı tavuk yumurtalarından elde edilen spesifik antikor kompleksinden oluşmaktadır.



Şekil 2. 1. A. Kumes- 9, 7 günlük yaştaki civcivler **B.** Kumes-10, 14 günlük yaştaki civcivler, **C.** Kumes-5 kesim yaşındaki tavuklar, **D.** Kumes-2, 28 günlük yaştaki tavuklar

2.1.3. Kan Serumı ve Organ Numuneleri

Çalışmada kullanılan kan serumu ve organ numuneleri için “Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu” onayına gerek bulunmadığına ilişkin “Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Raporu” Ek-1’de sunulmuştur.

Sürüler kümeslere sevk edildikten sonra maternal antikorların saptanması amacıyla her kümesteki bir günlük civcivlerden, tesadüfi örnekleme yöntemiyle 23 adet kan serumu alındı. Ayrıca her kümeden 21. günde ve kesim aşamasında da tesadüfi örnekleme yöntemiyle 23 adet kan serumu sağlandı. Tüm kümeslerden tesadüfi örnekleme yöntemiyle 7. gün, 14. gün, 21. gün, 28. gün, 35. gün ve kesim aşamasından önce rutin aşılama kontrolleri için Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’na soğuk zincir şartlarında gönderilen her kümesi temsilen 5 adet bursa Fabricius ve aynı

hayvanlara ait 5 adet dalak numuneleri kullanıldı. Bu çalışma kapsamında toplam 690 adet kan serumu, 300'er adet bursa Fabricius ve dalak numunesi analiz edildi. Analiz edilen numuneler Çizelge 2.2'de sunulmuştur.

Çizelge 2.2. Kümeslere ve sürü yaşlarına göre kullanılan kan serumu ve organ numuneleri

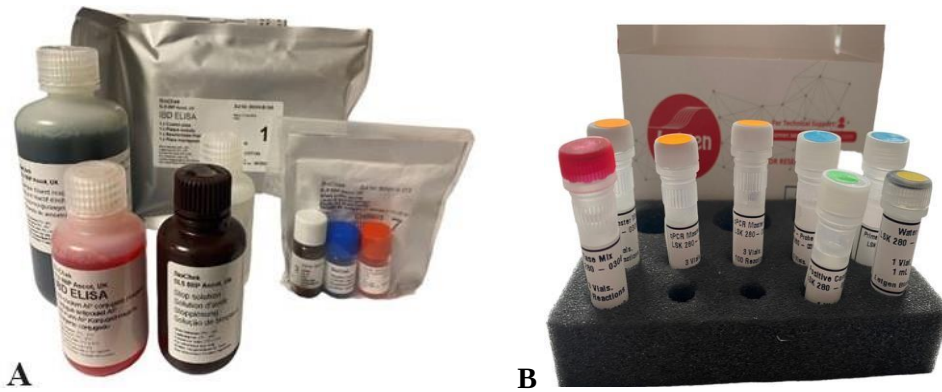
Kümes	1.gün	7.gün	14.gün	21.gün	28.gün	35.gün	Kesim
Kümes-1	Kan serumu	BF Dalak	BF Dalak	Kan serumu Bursa F. Dalak	BF Dalak	BF Dalak	Kan serumu BF Dalak
Kümes-2	Kan serumu	BF Dalak	BF Dalak	Kan serumu Bursa F. Dalak	BF Dalak	BF Dalak	Kan serumu BF Dalak
Kümes-3	Kan serumu	BF Dalak	BF Dalak	Kan serumu Bursa F. Dalak	BF Dalak	BF Dalak	Kan serumu BF Dalak
Kümes-4	Kan serumu	BF Dalak	BF Dalak	Kan serumu Bursa F. Dalak	BF Dalak	BF Dalak	Kan serumu BF Dalak
Kümes-5	Kan serumu	BF Dalak	BF Dalak	Kan serumu Bursa F. Dalak	BF Dalak	BF Dalak	Kan serumu BF Dalak
Kümes-6	Kan serumu	BF Dalak	BF Dalak	Kan serumu Bursa F. Dalak	BF Dalak	BF Dalak	Kan serumu BF Dalak
Kümes-7	Kan serumu	BF Dalak	BF Dalak	Kan serumu Bursa F. Dalak	BF Dalak	BF Dalak	Kan serumu BF Dalak
Kümes-8	Kan serumu	BF Dalak	BF Dalak	Kan serumu BF Dalak	BF Dalak	BF Dalak	Kan serumu BF Dalak
Kümes-9	Kan serumu	BF Dalak	BF Dalak	Kan serumu BF Dalak	BF Dalak	BF Dalak	Kan serumu BF Dalak
Kümes-10	Kan serumu	BF Dalak	BF Dalak	Kan serumu BF Dalak	BF Dalak	BF Dalak	Kan serumu BF Dalak

2.1.4. Serolojik ve Moleküler Kitler

Sürülerin maternal antikorlarının tespiti ve aşılama sonrası oluşacak antikor yanıtının saptanması için ticari bir ELISA kiti olan IBD ELISA (BioChek, UK, Product ID:CK113, Lot No: FS9283) kullanıldı. Kit içerisinde antijen kaplı plaka (5x, Lot No: CH7159), Konjugat (55 ml, Lot No:CH7617), Substrat tabletleri (10x, Lot No: CH7455), Substrat sulandırma tamponu (55 ml, Lot No: CH7579), Stop solüsyonu (55 ml, Lot No: 7539), Örnek sulandırma solüsyonu (180 ml, Lot No:CH7308), Yıkama tampon tabletleri (2x, Lot No: CH6861), Negatif Kontrol (3 ml, Lot No: CH6861) ve Pozitif kontrol (3 ml, Lot No: CH7618) kimyasalları ve solüsyonları kullanıldı (Şekil 2.2.A).

RNA ekstraksiyonu amacıyla manyetik ayırma teknolojisine dayanan ekstraksiyon robotuna uygun bir kit olan Bio-speedy Nucleic Acid Extraction Kit (Bioeksen, Turkey Product ID: ZFNAE01, Lot no: B307041078DD) kullanıldı. Kit içerisinde doku lizis tamponu (60 ml), proteinaz K solüsyonu (300 µl), steril kartuş seti ve steril otomatize robot pipeti kullanıldı.

Aşı virüsünün farklı günlerde ve organlarda kantitatif tespiti için ticari bir gerçek zamanlı PCR kiti olan Real-Time PCR Detection Kit for IBDV (Letgen Biotech, Turkey Product ID: LSK280-0300, Lot no:3172) kullanıldı. Kit, RT-qPCR Mastermix (100µl x 3), Primer/probe karışımı (100µl x 3), RT-karışımı (100 µl x 3), Pozitif kontrol (300 µl x1) ve su (1 ml) solüsyonlarından oluşmaktadır (Şekil 2.2.B).



Şekil 2.2. A. Maternal antikorlar ve aşılama sonrası oluşan antikor yanıtının tespiti için kullanılan serolojik ELISA kiti **B.** Aşı virüsünün tespiti için kullanılan RT-qPCR kiti

2.1.5. Analizlerde Kullanılan Cihazlar

Serolojik çalışmalar sırasında Thermo Scientific Wellwash ELISA yıkama cihazı, Biotek ELX800 ELISA okutma cihazı, Thermo Scientific Finnpiette F1 otomatik pipet seti kullanıldı.

Moleküler çalışmalar sırasında ise İldam MSC Class II Series biyolojik güvenlik kabini, Thermo Scientific Finnpiette F1 otomatik pipet seti, Thermo Scientific MicroCL 21 mikrosantrifüj cihazı, Biosan Bio TDB-100 kuru blok ısıtıcı, Thermo Scientific NanoDrop ND-1000 Spektrofotometre, Thermo Scientific Quant Studio 5 Real-Time PCR cihazı kullanıldı.

İmmün sistem organlarının ağırlıklarının ölçümü için Kern EMB 1200-1 elektronik hassas terazi kullanıldı.

2.2. Yöntem

2.2.1. Aşı Uygulama Yöntemi, Makroskobik ve Broiler Besi Performans Ölçümleri

2.2.1.1. Aşı Uygulama Yöntemi

Aşı, farklı iki kuluçkada yumurtadan çıkan bir günlük civcivlere deri altı (sc) enjeksiyon yoluyla 0,2 ml olarak uygulandı (Şekil 2.3). Aşılamaların ardından civcivler iki farklı coğrafi bölgede 10 farklı kümese sevk edildi. Aşının hazırlanmasında uygulanan adımlar aşağıda maddeler halinde sunulmuştur.

Bu adımlar;

- Oda sıcaklığında (<25 °C), 2 ml aşı çözücüsü ile liyofilize halde bulunan (1x1000 doz) aşı şişesi içerisine eklendi (Şekil 2.3).
- Şişe içeriği süspanse olana kadar karıştırıldı.
- Süspanse haldeki şişe içeriğinin tamamı aşı çözücüsü içerisine eklendi.
- Enjeksiyon başarısının tespiti için çözücüye özel boyar madde eklendi.

- Aşılama devam ederken aşının çökmesinin engellenmek için her 15 dakikada bir defa olmak üzere çözücü çalkalandı.
- Otomatize ekipman ile ilgili kümese ait her hayvana bireysel olarak uygulandı.
- Enjeksiyonu takiben, enjeksiyon ve aşılama uygulamasının başarısı için hayvanların ense bölgelerinin belirteç boyar madde ile boyanıp boyanmadığı kontrol edilerek kayıt edildi (Şekil 2.4).
- Her iki kuluçkanın da enjeksiyon ve aşılama uygulama başarıları yüzde olarak hesaplandı.



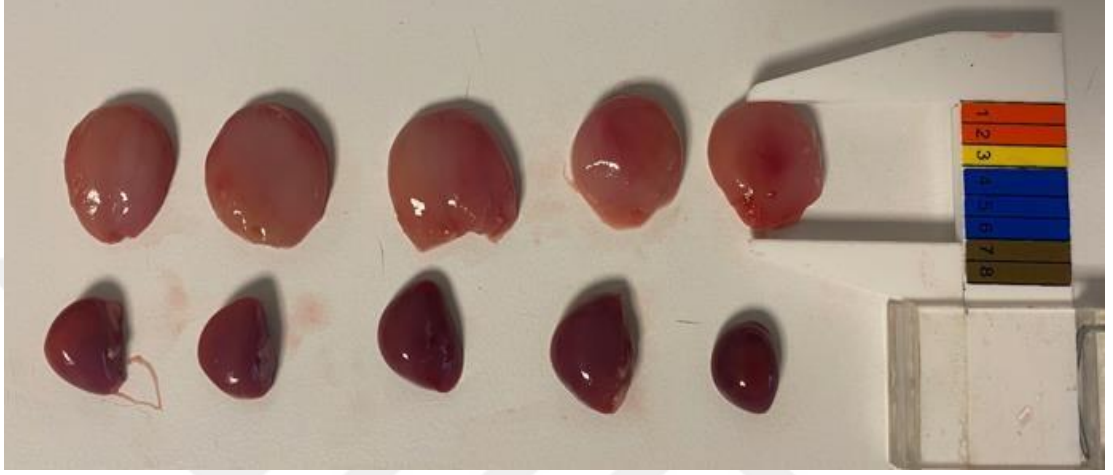
Şekil 2. 3. Aşının uygulanışı



Şekil 2. 4. Enjeksiyon başarısının kontrolü

2.2.1.2. Makroskobik Ölçümler

Aşı virüsünün bursa Fabricius ve dalak numunelerinde immunsupresyon ve B hücre depleksiyonuna neden olup olmadığını göstermesi açısından 28. günde bursa Fabricius ve dalak numuneleri bursametre ile ölçüldü (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Bursa Fabricius ve dalak numunelerinin bursametre ile ölçümü

Kümesleri temsil eden beş adet Bursa Fabricius numuneleri birden sekize kadar skorlandı. Sonuçlar olarak bireysel olarak kayıt edildi ve her kümesin aritmetik ortalamaları alındı. Elde edilen skorun karşılık geldiği bursa Fabricius çapları Çizelge 2.3’de sunulmuştur (Moraes vd., 2004).

Çizelge 2.3. Bursal skorları ve karşılık geldiği bursa Fabricius çapları

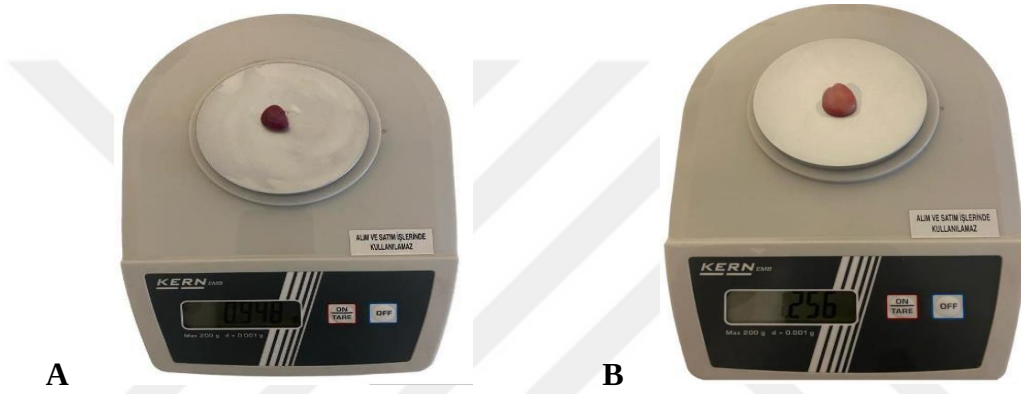
Bursal skor	Bursa Fabricius çap (mm)
1	≤ 3,17
2	3,18- 6,35
3	6,36- 9,52
4	9,53-12,7
5	12,8- 15,87
6	15,88-19,05
7	19,06-22,22
8	22,23-25,40

Ayrıca 28. günde kümeslerde hayvanların vücut ağırlıkları, bursa Fabricius (BF) ve dalak numuneleri hassas teraziyle ölçüldü (Şekil 2.6). Bireysel olarak organların ayrı ayrı ağırlıkları hayvanların ağırlıklarına bölünerek bursa Fabricius ve dalağın vücut ağırlığına

oranları hesaplandı ve her kümesin ortalamaları oluşturuldu. Hesaplama kullanılan formüller aşağıda gösterilmiştir.

Bu formüller (Latif vd., 2014);

- BF /Vücut ağırlığı oranı: (BF ağırlığı (g) x Vücut ağırlığı) x 100
- Dalak/Vücut ağırlığı oranı: Dalak ağırlığı (g) x Vücut ağırlığı x 100



Şekil 2.6. A. Dalak numunelerinin hassas terazi ile tartımı B. Bursa Fabricius numunelerinin hassas terazi ile tartımı

2.2.1.3. Broiler Besi Performans Ölçümleri

Aşı uygulanan kümeslerin broiler besi performansının belirlenmesi amacıyla kümeslerin yüzde ölüm oranları ayrı ayrı hesaplandı. Ölüm oranları, kümeslere sevk edilen civcivlerden kesime giden hayvanların çıkarılmasıyla elde edildi. Ayrıca broiler besi performansının belirlenmesinde Broiler Üretiminde Verimlilik Endeksi (EPEF) verileri de dikkate alındı. EPEF, yaşama gücü (%) ve canlı ağırlık (kg) çarpımının, kesim yaşı (gün) ve yem dönüşüm oranı (FCR) çarpımına bölünmesiyle hesaplandı (Ao ve Kim, 2020).

2.2.2. Serolojik Analiz

Çalışmada maternal antikorların tespiti ve aşılama sonrası oluşacak antikor yanıtının belirlenmesinde İndirekt ELISA yöntemi kullanıldı. Bu işlem ticari kit ile yapıldı. Yöntemin prensibi, önceden inaktif IBD antijeniyle kaplı plakaların üzerine şüpheli serumların

eklenerek antijen-antikor kompleksi oluşturulması ve bu kompleksin alkalın fosfataz enzimiyle etiketli anti-tavuk IgG eklenerek ilave bir kompleks oluşturulmasına dayanmaktadır. Oluşan komplekse kromojen formdaki substratın (para-nitrophenylphosphate) eklenmesi ve sarı rengin oluşması testin temel mekanizmasını oluşturur (Şekil 2.7). Alınan kan serumları kit üretici firmanın önerileri doğrultusunda işlendi. Bu kapsamda yapılan işlemler aşağıda maddeler halinde sunulmuştur.

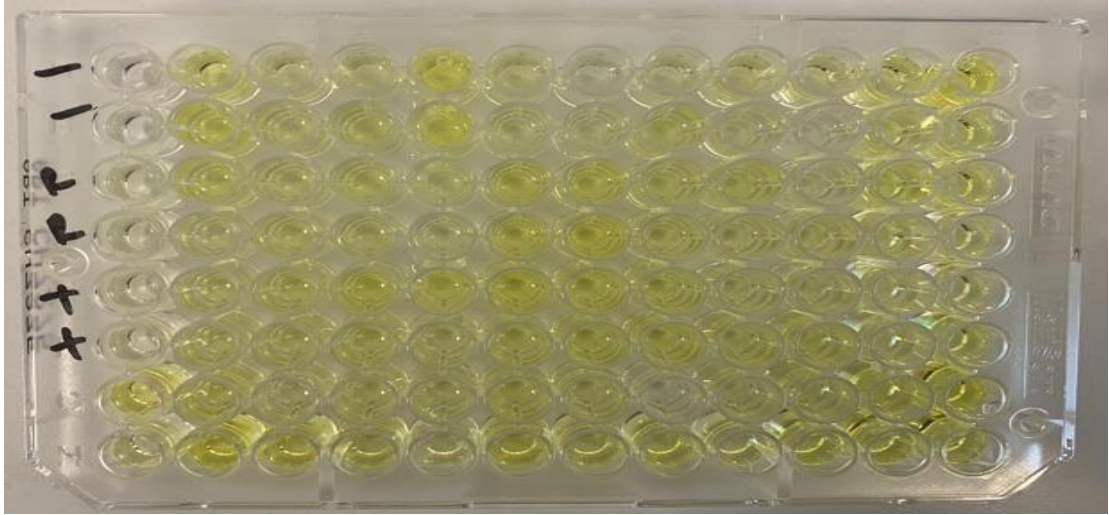
Bu öneriler doğrultusunda;

- Her serum, sulandırma solüsyonuyla 1:500 oranında seyreltildi. Bu seyreltme işlemi iki adımda gerçekleştirildi. Ayrı bir sulandırma plakasına serum numunelerinden 5 µl alınarak üzerine 245 µl sulandırma solüsyonu eklendi. Ayrı bir plakaya da 90 µl sulandırma solüsyonu eklendi 1:50 seyreltilen sulandırmadan 10 µl alınarak doğrudan bu plaka üzerine pipetlendi. Sonuç olarak serum numuneleri 1:500 oranında iki adımlı olarak seyreltildi.
- 100 µl pozitif kontrol, 100 µl negatif kontrol plakanın ilgili ikişer kuyucuğuna eklendi. Antijen kaplı plakanın uygun gözlerine de ayrı plakada sulandırılan numuneler 100 µl olacak şekilde pipetlendi ve plakanın üzeri ışık almasını engelleyecek şekilde kapatıldı. Oda sıcaklığında (23-25 °C) 30 dakika inkübe edildi.
- Hazneler ELISA yıkama cihazında her defada hazne başına 350 µl yıkama solüsyonu gelecek şekilde dört defa ardışık olarak otomatize olarak yıkandı. Yıkama sonrasında plaka, ters çevrilerek emici kağıt üzerinde kurutuldu.
- Uygun haznelerin tamamına 100 µl olacak şekilde konjugat eklendi ve plakanın üzeri ışık almasını engelleyecek şekilde kapatıldı. Oda sıcaklığında (23-25 °C) 30 dakika inkübe edildi
- Daha sonra yine ardışık olarak dört defa otomatize olarak yıkama işlemi gerçekleştirildi.
- Bu aşamada uygun haznelere 100 µl substrat solüsyonu eklendi plakanın üzeri ışık almasını engelleyecek şekilde kapatıldı. Oda sıcaklığında (23-25 °C) 15 dakika inkübe edildi.

- Reaksiyonu sonlandırmak için uygun haznelere 100 µl durdurma solüsyonu eklendi ve ELISA okuma cihazında 450 nm’de absorpsanlar okutuldu.

2.2.2.1. Testin Yorumlanması

Kit üretici firmanın verdiği önergelere göre testin geçerli olması için negatif kontrolün absorpsan değerinin 0,3’ün altında, ortalama negatif kontrol ile ortalama pozitif kontrol absorpsan değerleri arasındaki farkın da 0,15’den büyük olması gerekmektedir. Test kiti içerisinde bulunan IBD pozitif kontrolü, tavuk serumundaki anlamlı sayılabilecek minimum seviye dikkate alınarak standartlaştırılmıştır. Testin yorumlanmasındaki esas şüpheli numunelerin pozitif kontrolü referans olarak hesaplanmasına dayanır. Bu ilişki S/P oranı (Pozitif kontrole karşı numunenin oranı) olarak gösterilmektedir. 0,2 veya daha üzerindeki S/P değerlerinde bulunan numuneler pozitif olarak 0,199 ve daha düşük bulunan değerler ise negatif olarak kabul edildi (Çizelge 2.4).



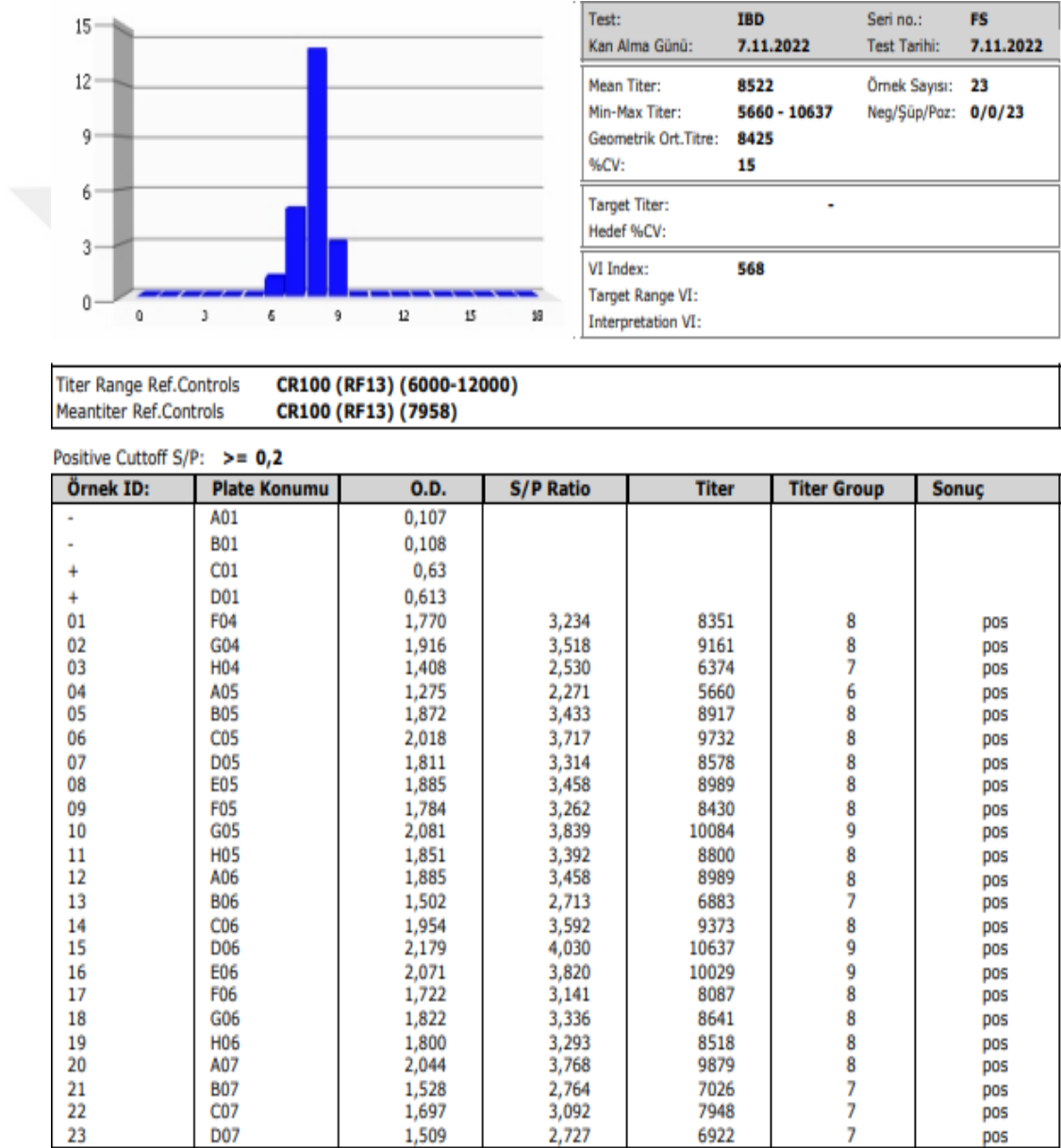
Şekil 2.7. İndirekt ELISA’da pozitif plaka görüntüsü

Çizelge 2.4. Testin yorumlanmasındaki referans aralık değerleri

S/P değeri	Titre aralığı	Antikor durumu
$\leq 0,199$	≤ 390	Saptanmadı
$\geq 0,2$	≥ 391	Pozitif

2.2.2.2. Antikor Titresinin Hesaplanması

Analizi yapılan bir numunenin S/P değeri ve sulandırma oranı (1:500), kit üretici firmanın önerdiği formül esas alınarak antikor titresi otomatize ELISA okuyucu cihaz tarafından hesaplandı ve kit üretici firmanın yazılım programından sonuçlar elde edildi (Şekil 2.8).



Şekil 2.8. Kit üretici firmanın yazılımından alınan rapor

2.2.3. Moleküler Analiz

Aşılamadan sonra bursa Fabricius ve dalak numunelerinde aşı suşunun kantitatif tespiti için sırasıyla nükleik asit ekstraksiyonu ve Gerçek zamanlı Ters Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-qPCR) uygulandı.

2.2.3.1. Nükleik Asit Ekstraksiyonu

Her Bursa Fabricius ve dalak numunelerinden nükleik asit ekstraksiyonu ayrı ayrı manyetik ayırma teknolojisine dayanan otomatize robot ile gerçekleştirildi. Ekstraksiyonun prensibi lizatin konsantre kaotropik tuz ve deterjan karışımı üzerine eklenen alkol varlığında silika kaplı demir oksit mikropartiküllere nükleik asitin bağlanması ve temizlenerek saflaştırılması esasına dayanır. Nükleik asit ekstraksiyonu için izlenen adımlar aşağıda maddeler halinde sunulmuştur.

Bu işlemler;

- Organ numuneleri 50 mg olacak şekilde tartıldı ve çift bistüri ile parçalandıktan sonra 2 ml'lik vida kapaklı bir tüpe alındı.
- Homojenizatör ile 2 dakika boyunca homojenize edilerek mekanik parçalama işlemi yapıldı.
- Homojenatın üzerine 700 µl deterjanlı ve PCR inhibitörü elimine edici bir solüsyon olan "Tissue Lysis" eklendi.
- Yaklaşık bir saniye boyunca 3.000 devirde kısa bir santrifüj yapılarak tüp çeperindeki kalıntılar dibe çöktürüldü.
- Tüpler 95 °C'de 15 dakika boyunca kuru ısı bloğunda inkübe edildi.
- Tüp başına 40 µl Proteinaz-K eklenerek 5 dakika boyunca maksimum hızda vorteksleme işlemi yapıldı. Kısa bir santrifüj (3.000 g 1 saniye) işleminden sonra tüpler 56 °C'de 18-24 saat boyunca inkübe edildi.
- İnkubasyonun ardından 14.000 g'de 1 dakika santrifüj edilerek süpernatantın 300 µl'lik bölümü ekstraksiyon işleminin gerçekleşmesi için robot kartuşuna eklendi.

Otomatize robotik ekstraksiyon işleminin ardından nükleik asit miktarı ve yoğunluğu spektrofotometre ile ölçüldü. Ölçülen nükleik asitler -20 °C'de RT-qPCR işlemine kadar saklandı.

2.2.3.2. Gerçek Zamanlı Ters Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-qPCR)

Aşılamadan sonra farklı günlerde bursa Fabricius ve dalak numunelerinde aşı suşunun kantitatif olarak varlığı RT-qPCR ile gerçekleştirildi. Bu işlem için ticari kit kullanıldı. Kit üretici firmanın önerileri doğrultusunda aşağıda maddeler halinde sunulan işlemler sırasıyla gerçekleştirildi.

Bu işlemler;

- Kit içerisinden çıkan Mastermix, Primer-probe karışımı, RT-karışımı, su ve Pozitif kontrol tamamen çözünene kadar bekletildi.
- Tamamen çözündüğünden emin olunan komponentler maksimum hızda vortekslendi ve kısa bir santrifüj işlemiyle birlikte tüp etrafındaki solüsyonların dibe çökmesi sağlandı.
- Daha sonra Çizelge 2.5'te sunulan miktarlarda PCR karışımı hazırlandı ve PCR tüplerine eklendi.
- PCR tüpleri Thermo Scientific Quant Studio 5 cihazına yüklendi ve Çizelge 2.6'da belirtilen reaksiyon koşullarında analiz edildi.
- Kit üretici firmanın önerileri doğrultusunda sinyal ölçümü için FAM kanalı seçildi.

Çizelge 2.5. PCR karışımı ve hacimleri

PCR komponenti	Hacim (µl)
qPCR Mastermix	10 µl
Primer-Probe karışımı	2 µl
RTase karışımı	1 µl
Su	3 µl
Negatif kontrol (su)	4 µl
Pozitif kontrol	4 µl
Nükleik asit	4 µl
Toplam hacim	20 µl

Çizelge 2.6. PCR reaksiyon koşulları

PCR programı	Sıcaklık	Zaman	Döngü sayısı
Ters transkripsiyon	50 °C	10 dakika	1
Polimeraz Aktivasyonu	95 °C	2 dakika	1
Denatürasyon	95 °C	10 saniye	40
Bağlanma, Uzama ve Okuma	60 °C	30 saniye	

2.2.3.2.1. Sonuçların Yorumlanması

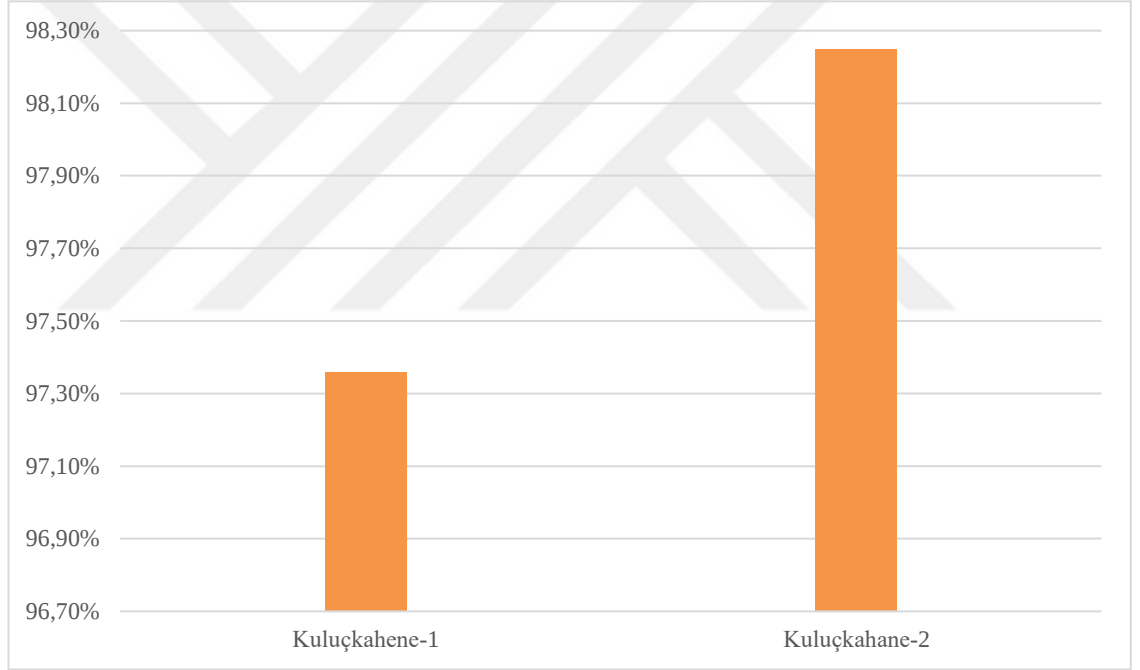
Kit üretici firmanın önerileri doğrultusunda RT-qPCR aşamasının sonlanması ardından FAM kanalında sigmoidal eğri bulunan ve eşik döngü değeri sayısı 35'in altında olan reaksiyonlar pozitif olarak değerlendirildi. Testin geçerli olduğunun kabul edilmesi için pozitif kontrolün eşik döngü değerinin ≥ 15 ve ≤ 35 arasında olmasına dikkat edildi. Ayrıca negatif kontrol olarak kullanılan reaksiyonda da sigmoidal eğrinin bulunmaması test geçerliliğinin bir diğer kriteri olarak değerlendirildi.

3. BULGULAR

3.1. Enjeksiyon Başarı Kontrolü, Makroskobik Ölçüm ve Broiler Besi Performans Bulguları

3.1.1. Enjeksiyon Başarı Kontrolü Bulguları

Farklı iki kuluçkada aşılanan hayvanların enjeksiyon başarı kontrolleri yapıldığında kuluçkahane-1’de enjeksiyon başarısı %97, 36 bulunurken kuluçkahane-2’de enjeksiyon başarısı %98,25 olarak bulundu (Şekil 3.1). Her iki kuluçkahane-1’in ortalaması ise %97, 8 olarak saptandı.



Şekil 3.1. Kuluçkahanelere göre enjeksiyon başarı kontrol bulguları

3.1.2 Makroskobik Ölçüm Bulguları

Aşılamadan sonraki 28.günde bursametreyle ölçülen bursa Fabricius numunelerinin ortalama skorları kümesler arasında 5 ile 6,2 arasında değişti. Tüm kümeslerin ortalaması ise 5,54 olarak saptandı. Skorlama sonuçları Çizelge 3.1’de sunulmuştur.

Çizelge 3.1. Ortalama bursa Fabricius skorları

Kümes	Ortalama bursa Fabricius skorları
Kümes-1	5,4
Kümes-2	5,2
Kümes-3	5,6
Kümes-4	6
Kümes-5	5
Kümes-6	5,8
Kümes-7	5,2
Kümes-8	6,2
Kümes-9	5
Kümes-10	6

Aşılamadan sonraki 28. günde bursa Fabricius ağırlıklarının vücut ağırlıklarına oranı ortalamaları kümesler arasında 0,13 ila 0,2 arasında dalak ağırlıklarının vücut ağırlıklarına oranının ortalamaları kümesler arasında 0,04 ila 0,07 arasında değiştiği dikkati çekti. Tüm kümeslerin bursa Fabricius ağırlıklarının vücut ağırlıklarına oranı ortalamaları 0,15 bulunurken dalak ağırlıklarının vücut ağırlıklarına oranının ortalamaları ise 0,05 olarak görüldü. Kümeslerin ortalamaları Çizelge 3.2’de sunulmuştur.

Çizelge 3.2. Kümeslerin bursa Fabricius ve dalak ağırlıklarının vücut ağırlığına oranı

Kümes	Bursa Fabricius ağırlığı/ vücut ağırlığı	Dalak ağırlığı /Vücut ağırlığı
Kümes-1	0,14	0,05
Kümes-2	0,14	0,04
Kümes-3	0,15	0,05
Kümes-4	0,16	0,04
Kümes-5	0,17	0,06
Kümes-6	0,16	0,07
Kümes-7	0,15	0,05
Kümes-8	0,20	0,06
Kümes-9	0,13	0,04
Kümes-10	0,14	0,06

3.1.3. Broiler Besi Performans Bulguları

Kümesler arasında ölüm oranları %3,6 ile %8,9 arasında EPEF indeksleri ise 348 ile 413 arasında değişti. Tüm sürülerin genel ölüm ortalaması 5,69 ve EPEF ortalamaları 376,5 olarak bulundu. Tüm sürülerin bireysel olarak verileri Çizelge 3.3'te sunulmuştur.

Çizelge 3.3. Broiler besi performans bulguları

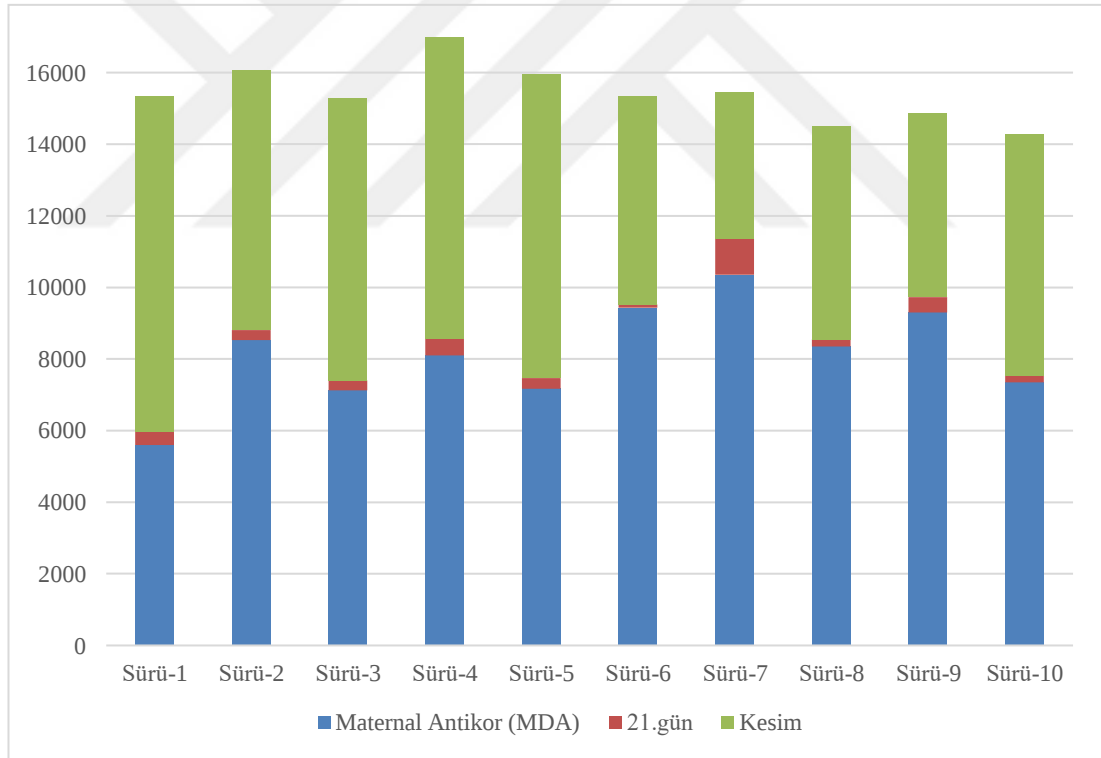
Kümes	Ortalama ölüm oranı (%)	EPEF
Kümes-1	3,66	413
Kümes-2	6,14	366
Kümes-3	3,97	390
Kümes-4	4,93	365
Kümes-5	3,60	376
Kümes-6	5,29	363
Kümes-7	6,49	348
Kümes-8	8,90	349
Kümes-9	5,33	410
Kümes-10	8,63	385
Ortalama	5,69	376,5

3.2. Serolojik Analiz Bulguları

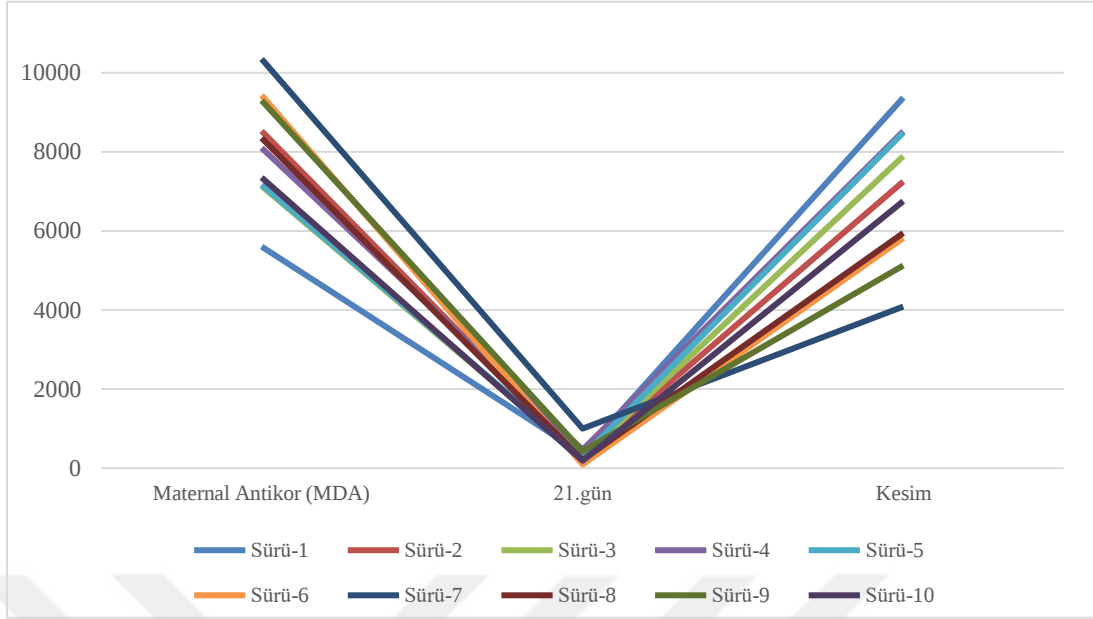
Kümesler arasında IBD'ye karşı maternal antikor titrelerinin 5600 ile 10350 arasında değiştiği bulundu. Aşılamadan sonraki 21. günde IBD antikor titreleri 95 ile 1003 arasında değişti. Kesim aşamasından önce alınan kan serumlarında ise IBD antikor titrelerinin 4091 ile 9370 arasında değiştiği görüldü. Her kümesin antikor titresi Çizelge 3.4'de sunulmuştur. Antikor seviyelerinin 1. gün, 21. gün ve kesim aşamasındaki değişimi de Şekil 3.2.ve Şekil 3.3'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.4 Serolojik analiz bulguları

Kümesler	Maternal Antikor (MDA) (1.gün)	21.gün	Kesim
Kümes-1	5600	363	9370
Kümes -2	8529	278	7252
Kümes -3	7128	272	7890
Kümes -4	8105	472	8522
Kümes -5	7169	299	8485
Kümes -6	9432	95	5822
Kümes -7	10350	1003	4091
Kümes -8	8350	211	5950
Kümes -9	9300	428	5128
Kümes -10	7350	186	6751



Şekil 3.2. Antikor titrelerinin 1. gün, 21. gün ve kesim aşamasındaki değişimi-1



Şekil 3.3. Antikor titrelerinin 1. gün, 21. gün ve kesim aşamasındaki değişimi-2

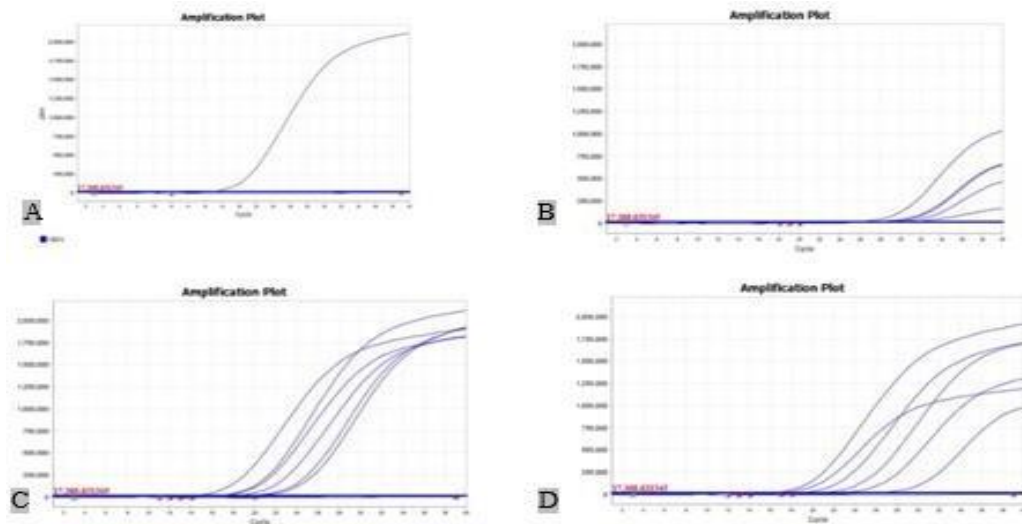
3.3. Moleküler Analiz Bulguları

RT-qPCR analizi sonrasında aşılamadan sonraki 7.günde hiçbir küme burs Fabricius'ta aşı suşu saptanamazken dalak numunelerinde ise 10 adet kümesin 4 adetinin tamamında %20 oranında, aşılamadan sonraki 14.günde burs Fabricius'ta 10 adet kümesin sadece 1 adetinde %20 oranında; dalak numunelerinde tüm kümeslerde %60 ila %80 arasında değişen oranda, aşılamadan sonraki 21.günde burs Fabricius'ta tüm kümeslerde %20 ile %40 arasında değişen oranda; dalak numunelerinde de tüm kümeslerde %60 ile %80 oranında değişen oranda aşılamadan sonraki 28.günde burs Fabricius numuneleri tüm kümeslerde %20 ile %80 arasında değişen oranda; dalak numunelerinde de tüm kümeslerde %80 ila %100 arasında aşılamadan sonraki 35.günde burs Fabricius numuneleri 10 adet kümesin tamamında %40 ile %100 arasında; dalak numunelerinde 10 adet kümesin tamamında %20 ile %40 arasında değişen oranda ve son olarak kesim aşamasında burs Fabricius numunelerinde tüm kümeslerde %80 ve %100 arasında aşı suşu saptanırken, dalak numunelerinde 10 adet kümesin 6 adetinde %20 ile %60 arasında değişen oranda aşı suşu saptandı (Şekil 3.4). Kümesler ve organlardaki RT-qPCR bulguları Çizelge 3.5'te sunulmuştur. Burs Fabricius ve dalakta aşı suşlarının günlere göre yüzde değişimleri Şekil 3.5 ve Şekil 3.6'da sunulmuştur.

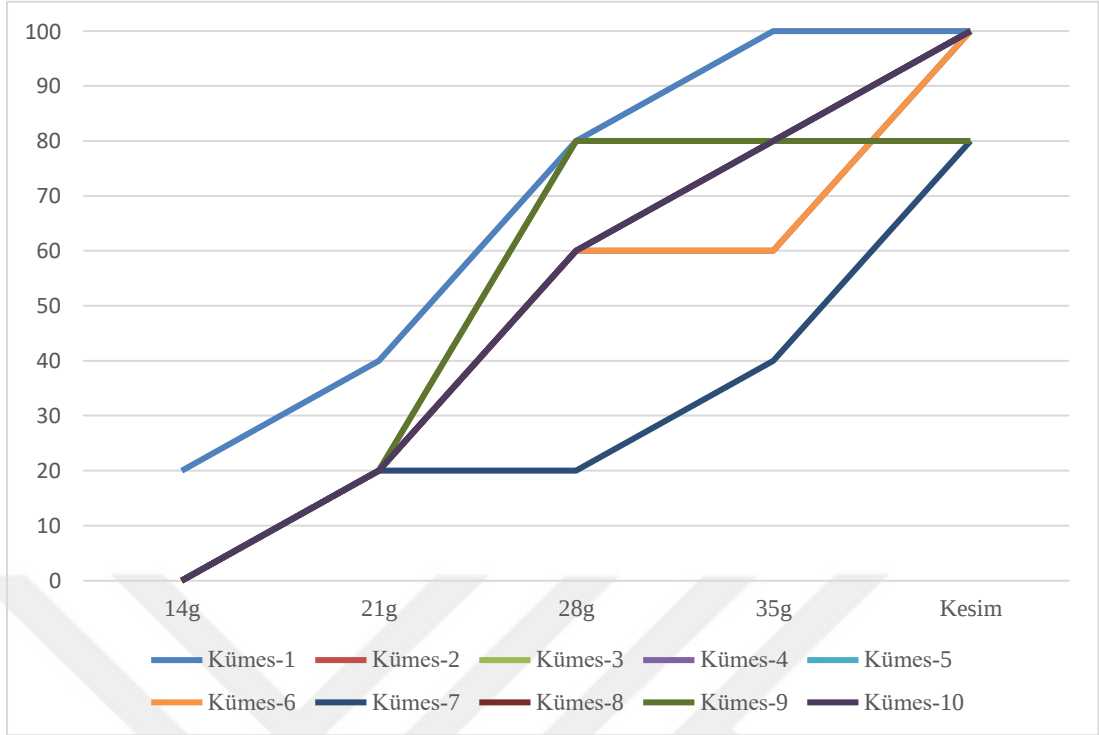
Çizelge 3.5. RT-qPCR bulguları

Kümes	Bursa Fabricius						Dalak					
	Aşı suşu pozitifliği %*						Aşı suşu pozitifliği %*					
	7g	14g	21g	28g	35g	K**	7g	14g	21g	28g	35g	K**
Kümes-1	0	20	40	80	100	100	20	60	60	100	20	0
Kümes-2	0	0	20	60	80	100	20	60	80	100	40	20
Kümes-3	0	0	20	80	80	100	0	80	80	80	60	20
Kümes-4	0	0	20	60	60	100	0	80	60	80	40	20
Kümes-5	0	0	20	60	80	100	0	80	80	80	40	0
Kümes-6	0	0	20	60	60	100	20	80	80	100	60	0
Kümes-7	0	0	20	20	40	80	0	60	60	100	60	60
Kümes-8	0	0	20	60	80	100	20	60	80	80	40	20
Kümes-9	0	0	20	80	80	80	0	80	80	80	60	40
Kümes-10	0	0	20	60	80	100	0	80	60	100	60	0

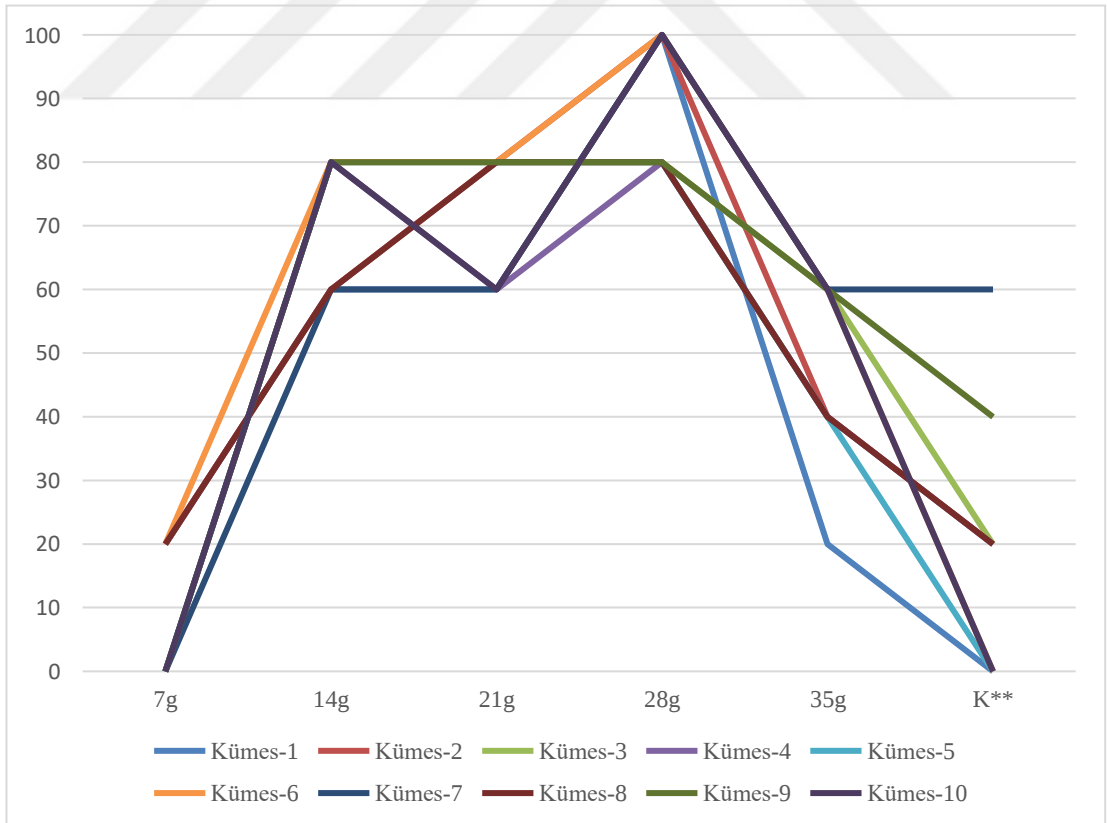
*Analiz edilen 5 adet numunenin bir adeti pozitif bulunursa % 20, iki adeti pozitif bulunduyorsa %40, üç adeti pozitif bulunduyorsa %60, dört adeti pozitif bulunduyorsa %80 ve tamamı pozitif bulunduyorsa %100 olarak hesaplanmıştır. ** K: Kesim aşaması



Şekil 3.4. A. Kümes-4'e ait bursa Fabricius RT-qPCR bulguları (7.gün), B. Kümes-3'e ait dalak RT-qPCR bulguları (28.gün), C. Kümes-6'ya ait dalak RT-q PCR bulguları (28.gün), D. Kümes-10'a ait bursa Fabricius RT-qPCR bulgular



Şekil 3.5. Kümeslerdeki günlere göre bursa Fabricius'ta aşı suşunun yüzde değişimi



Şekil 3.6. Kümeslerdeki günlere göre dalakta aşı suşunun yüzde değişimi

4. TARTIŞMA

Türkiye’de broiler sürülerde İnfeksiyöz Bursal Hastalığa karşı farklı teknolojilerde geliştirilmiş çeşitli aşılar kullanılmakta ve bu aşılar hayvanlarda değişen oranlarda çoğalarak antikor yanıtı oluşturmaktadır. Broiler sürülerde IBD’ye karşı korunma stratejileri arasında immunkompleks aşılar geliştirilmiştir. İmmunkompleks aşılar tüm dünyada olduğu gibi Türkiye’de de kullanılmaya devam edilmektedir. Ancak IBD’ ye karşı kullanılan aşılama etkinliğinde rol oynayan bazı değişkenler de bulunmaktadır. Aşı üretim tekniği, kümes kapasitesi, coğrafi bölge, damızlık orjinleri, aşı uygulama günü, farklı maternal antikor seviyeleri ve bakım-besleme bu faktörlerden bazılarıdır. Hastalığın gerek ekonomik gerekse hayvan refahı açısından önemi dolayısıyla uygulanan aşılamanın etkinlik çalışmalarının uygun yöntemlerle yapılması aşılarından alınacak en yüksek yararı sağlayacak ve hastalığın kontrolünü kolaylaştıracaktır.

İmmunkompleks aşılamanın etkinliğinin izlenmesine yönelik çalışmaların birçoğu az sayıda broiler hayvanlarda ya da SPF hayvanlarda yapılmıştır (Abou El-Fetouh vd., 2020; Arshad vd., 2019; Camilotti vd., 2016; Cazaban vd., 2018; Haddad vd., 1997; Hassanzadeh vd., 2006; Ivan vd., 2005; Muniz vd., 2018; Sedeik vd., 2019). Sunulan tez çalışması saha koşullarında 10 farklı kümeste yapılan ilk çalışma niteliğindedir. Sunulan tez çalışması Türkiye’de de immunkompleks aşılamanın etkinliğinin moleküler olarak izlendiği temel çalışma özelliğini taşımaktadır. IBD’ye karşı uygulanan canlı, rekombinant ve immunkompleks aşılamanın etkinlikleri farklı metotlarla izlense de en etkili yöntem RT-qPCR olarak belirtilmiştir (Phong vd., 2003; Wu vd., 1992).

Sunulan tez çalışmasında IBD’ye karşı immunkompleks aşı ile aşılanan 450.008 broiler civcivde aşılama etkinlikleri serolojik, moleküler ve makroskobik ölçümlerle araştırıldı. Broiler civcivlerin çıkımları farklı iki kuluçkada gerçekleşti ve farklı iki coğrafi bölgelerde yer alan 10 adet kümese sevk edildi. Civcivler 7 farklı damızlık orijinine aitti.

Farklı iki kuluçkahanede derialtı uygulanan aşının enjeksiyon başarıları %97,36 ile %98,25 olarak bulundu. Her iki kuluçkahanenin enjeksiyon başarısının birbirine benzer olduğu dikkati çekti. Elde edilen sonucun aşı üretici firmanın belirttiği deri altı enjeksiyonu başarı hedefine (%98) oldukça yakın olduğu görüldü.

Sunulan tez çalışmasında elde edilen makroskobik analiz bulgularına göre aşılama sonrası 28. günde bursametreyle ölçülen bursa Fabricius numunelerinin ortalama skorları kümesler arasında 5 ile 6,2 arasında değişti. Tüm kümeslerin ortalaması ise 5,54 olarak saptandı. Camilotti vd. (2016) yaptıkları çalışmada immunkompleks aşılı sürülerin bursal skorunu aşılama sonrası 28. günde 3 ile 4 arasında bulmuştur. Bu bulgunun sunulan tez çalışmasında elde edilen bulgulardan daha düşük olduğu görüldü. Nishizawa vd. (2022)'de immunkompleks aşıda bulunan aşı suşunun bursa Fabricius üzerinde etkisini araştırmışlar ve aşılama sonrası 28. günde bursal skoru 4,88 olarak saptamışlardır. Bu çalışma bulgusunun da sunulan tez çalışmasından elde edilen sonuca göre daha düşük olduğu dikkati çekti. Bu bulgular arasındaki farklılık, civcivlerde maternal antikor düzeylerinin farklı olması ile açıklanabilir.

Aşılama sonrası 28. günde bursa Fabricius ağırlıklarının vücut ağırlıklarına oranı ortalamaları kümesler arasında 0,13 ile 0,2 arasında dalak ağırlıklarının vücut ağırlıklarına oranının ortalamaları kümesler arasında 0,04 ile 0,07 arasında değiştiği bulundu. Cazaban vd. (2015) hiç IBD aşısı yapılmamış broiler sürülerde bursa Fabricius ağırlıklarını vücut ağırlıklarına oranlamışlar ve sağlıklı bursa Fabricius/vücut ağırlığı oranının tüm yaşlarda 0,11'den düşük olmaması gerektiğini belirtmişlerdir. Raji vd. (2017) yaptıkları çalışmada eğer bursa Fabricius/canlı ağırlık oranı 0,7'den büyükse bursal hasarın bulunmadığını bildirmişlerdir. Sunulan tez çalışmasında elde edilen bulgular aşılama ve aşı suşunun bursal deplesyona ve B hücreler üzerinde olumsuz bir etkiye neden olmadığını gösterdi Lupini vd. (2020) immunkompleks aşının da içinde bulunduğu üç farklı aşının bursa Fabricius/canlı ağırlık oranını kıyaslamışlar ve immunkompleks aşılı sürülerin oranını 0,1 ile 0,15 arasında bulmuşlardır. Bu bulgu sunulan tez çalışmasından elde edilen bulguları desteklemektedir. Arshad vd. (2019) immunkompleks aşı ile aşılanan sürülerde aşılama sonrası 28. günde bursa Fabricius ağırlıklarını/vücut ağırlığına oranlamışlar ve oranı 0,15 olarak saptamışlardır. Bu çalışmadan elde edilen bulgu da sunulan tez çalışmasıyla örtüşmektedir. Nishizawa vd. (2022)'de immunkompleks aşı suşunun bursal deplesyona sebep olup olmadığını araştırmışlar ve çalışmada bursa Fabricius/vücut ağırlığı oranını 0,13 olarak saptamışlardır. Bu çalışmada ortaya koyulan sonucun sunulan tez çalışmasında elde edilen sonuçla paralellik gösterdiği görüldü. Corley vd. (2001) immunkompleks aşılı sürülerde bursa Fabricius'un vücut ağırlığına oranını 0,9 olarak bulmuşlardır. Bu sonucun sunulan tez çalışmasından elde edilen bulgulardan daha düşük olduğu dikkati çekti. Haddad vd. (1997) yaptıkları çalışmada hayvanları immunkompleks aşı ile aşılamışlar, bursa Fabricius/vücut ağırlığını hesaplamışlar ve aşılama sonrası 31. günde oranı 0,81 olarak bulmuşlardır. Bu

sonucun sunulan tez çalışmasında elde edilen bulgulardan daha düşük olduğu görüldü. Bu farklılıkların değişik maternal antikor düzeyleri ve aşı suşlarının hedef organa ulaşma süresinden kaynaklanabileceği düşünüldü.

Sunulan tez çalışmasında broiler besi performans bulguların değerlendirildiğinde kümesler arasında ölüm oranları %3,6 ile %8,9 arasında EPEF indeksleri ise 348 ile 413 arasında değişti. Tüm sürülerin genel ölüm ortalaması 5,71 ve EPEF ortalamaları 376 olarak bulundu. Ray vd. (2021) IBD'ye karşı uygulanan içerisinde immunkompleks aşının da bulunduğu farklı aşıların broiler besi performansına etkisini araştırmışlar ve immunkompleks aşı aşılanan sürünün EPEF indeksini 366, 6 olarak bildirmişlerdir. Bu çalışmayla sunulan tez çalışmasından elde edilen bulgular benzer bulundu.

Civcivlerin maternal antikor titrelerinin 5.600 ile 10.350 arasında değiştiği ELISA ile saptandı. Bu bulgu kümesler arasında maternal antikorların oldukça değişken olduğunu gösterdi. Haddad vd. (1997) yaptıkları çalışmada farklı broiler sürülerde ELISA ile saptadıkları maternal antikor seviyelerini <3.000 düşük, 3.000-5.000 orta düzey maternal antikor >5.000 yüksek düzey maternal antikor olmak üzere üç gruba ayırmış ve farklı maternal antikor seviyelerinin IBD aşılama oranlarını etkilediğini belirtmişlerdir. El-Kady vd. (2008) yaptıkları çalışmada tavukların IBD maternal antikorlarının yarılanma günlerini araştırmışlar ve sürülerin maternal antikorlarının 4596 ile 5449 arasında değiştiğini bulmuşlardır. Ashraf vd. (2006) broiler civcivlerde yaptıkları 0. gün indirekt ELISA'da maternal antikorları 4.527 ile 17.487 arasında değiştiğini ortaya koymuşlardır. Türkiye'de yapılan çalışmalarda ise Yılmazlar (2006) 53.040 adet Ross 308 broiler civcivin maternal antikor titresini 6.198 olarak bulmuştur. Bildir (2008) üç adet yumurtacı sürüde maternal antikorları ELISA ile araştırmış ve sürülerin maternal antikorlarını 4167, 4565 ve 5197 olarak bulmuştur. Tez çalışmasında elde edilen maternal antikor bulguları yazılı literatürde yer alan diğer çalışmalarda ortaya koyulan sonuçlarla benzer bulundu.

Kümesler arasında maternal antikorların hızla yarılandığı ve 21. günde tüm kümeslerde antikor seviyelerinin en düşük düzeyde olduğu saptandı. Kesim aşamasına kadar antikor seviyelerinin arttığı görüldü. Tüm kümeslerin maternal antikorlarının ortalaması 8.131, aşılamadan sonraki 21. günde tüm kümeslerin ortalaması 360 ve kesim yaşımda tüm kümeslerin ortalaması 6.926 olarak bulundu. Elde edilen bulgulara göre maternal antikor titresini en yüksek olan kümede maternal antikorların yarılanma süresine bağlı olarak kesim aşamasında en düşük aşılama sonrası antikor seviyesi oluştuğu, maternal antikorları en düşük

olan kümeşte ise maternal antikorun daha hızlı yarılanarak kesim aşamasında en yüksek aşılama sonrası maternal antikor seviyelerinin oluştuğu dikkati çekti. Bu bulgular maternal antikorların immunkompleks aşılarda aşılama sonrası oluşacak antikor seviyelerini etkilediğini gösterdi. Charoenvisal vd. (2022) immunkompleks aşılarda etkinliği incelemişler ve antikor seviyesinin aşılama sonrası 21-25. günlerde en düşük düzeyde olduğunu daha sonra 45. güne kadar arttığını belirtmişlerdir. El-Fetouh vd. (2020) Maternal antikorunu bulunmayan SPF broiler hayvanlara 1. gün immunkompleks aşı uygulamışlar ve farklı haftalarda kan serumu alarak ELISA ile aşılama sonrası antikor seviyelerini izlemişlerdir. Bu çalışmada araştırmacılar maternal antikorunu bulunmayan hayvanlarda aşılama sonrası hemen sonra antikor seviyelerinin arttığı ve bu artışın hayvan yaşına bağlı olarak devam ettiğini görmüşlerdir. Sedeik vd. (2019) çalışmasında yüksek maternal antikor seviyelerine sahip broiler sürülerde immunkompleks, canlı aşı ve vektör aşılarda aşılama sonrası antikor seviyelerini araştırmışlar ve 21. günlük yaşta antikor seviyelerinin en düşük düzeyde olduğunu ve kesim aşamasına kadar antikor seviyelerinin arttığını bulmuşlardır. Cazaban vd. (2018) çalışmasında ise düşük maternal antikor seviyelerine sahip 198.400 adet broilerde immunkompleks aşılarda etkinliklerini serolojik olarak kontrol etmişlerdir. Antikor seviyelerinin 21. günde artmaya başladığını ve kesime kadar arttığını belirtmişlerdir. Muniz vd. (2018) yüksek ve düşük maternal antikor seviyesine sahip sürülerde immunkompleks aşıyla aşılanan broiler hayvanları serolojik olarak takip etmişlerdir. Çalışmada yüksek maternal antikor seviyesinin aşılama sonrası 21. günde tamamen yarılandığı ve kesim yaşına kadar antikor seviyesinin arttığı saptanmıştır. Düşük maternal antikor seviyesine sahip hayvanlarda ise aşılama sonrası 21. günden daha erken yarılandığı ve kesime kadar arttığı belirtilmiştir. Ayrıca yüksek maternal antikor seviyesine sahip sürülerin kesim yaşında daha düşük, düşük maternal antikor seviyesine sahip hayvanlarda da daha yüksek antikor seviyesine sahip olduğu belirtilmiştir. Ray vd. (2021) yaptıkları çalışmada içerisinde immunkompleks aşının da bulunduğu aşılarda antikor seviyelerini karşılaştırmış ve immunkompleks aşıları hayvanların aşılama sonrası 21. günde en düşük seviyede olduğu daha sonra ise antikor seviyelerinin artarak kesim aşamasında en yüksek düzeye ulaştığını belirtmişlerdir. Sunulan tez çalışmasında elde edilen serolojik analiz bulguları yazılı literatürden sağlanan bulgularla benzerlik gösterdi. Ancak yapılan yazılı literatür taramalarında saha koşullarında sunulan tez çalışması kadar farklı maternal antikor titresine sahip sürülerin kullanıldığı çalışmalara rastlanılmadı.

Yapılan moleküler analizlerde hiçbir sürüde aşılama sonrası 7. günde bursa Fabricius'ta aşı suşu saptanmadı. Dalakta ise aşılama sonrası 7. günde iki adet sürüde aşı suşu saptandı. Bu sonuç aşı suşunun önce dalağa, dalağın ardından bursa Fabricius'a

ulaştığını gösterdi. Yapılan analizde 14. günde bursa Fabricius'ta sadece bir adet kümeşte aşı suşu saptanırken bu kümesin en düşük maternal antikora sahip olduğu dikkati çekti. Diğer kümeslerde aşılama sonrası 21. günde aşı suşunun bursa Fabricius'a ulaşmaya başladığı ve burada çoğalarak antikor yanıtı oluşturduğu saptandı. Aşı suşunun bursa Fabricius'a ulaştığı zaman ile maternal antikorların yarılacağı zamanının birbirine yakın olduğu düşünüldü. Sürü yaşının artışıyla birlikte bursa Fabricius'ta aşı suşunun RT-qPCR ile saptanabilirliğinin arttığı saptandı. Dalakta ise aşılama sonrası 14. günde tüm kümeslerde aşı suşu saptandı. Ancak kesime kadar aşılama sonrası 28. günde en yüksek seviyeye ulaştığı ve kesim aşamasında ise düşük seviyelerde olduğu görüldü. Elde edilen bu bulgu, aşı suşunun dalaktan bursa Fabricius'a göç ettiğini düşündürdü. Dalakta kesim aşamasında aşı suşunun saptanabilirliğinin en yüksek olduğu kümesin maternal antikorunun da en yüksek olduğu görüldü. Bu sonuç maternal antikor yüksek olan kümeslerde dalaktan bursa Fabricius'a aşı suşunun daha geç göç ettiğini gösterdi. Ivan vd. (2005) kuluçkada deri altı yolla immunkompleks aşı ile aşılanan broiler sürülerde aşılama sonrası farklı zamanlarda aşı suşunun farklı dokularda saptanabilirliğini RT-qPCR ile incelemişler ve aşılama sonrası 14. günde maternal antikorları bulunmayan SPF hayvanların bursa Fabricius'larında aşı suşunu saptamaya başlamışlardır. Maternal antikora sahip hayvanlarda ise 17. günde aşı suşunu bursa Fabricius'ta teşhis etmişler ve kesim yaşına kadar aşı suşunun bursa Fabricius'ta artarak çoğaldığını göstermişlerdir. Dalakta ise aşı suşunu saptayamamışlardır. Aşılama sonrası 14. günde bursa Fabricius'ta aşı suşunun saptanabilmesi sunulan tez çalışmasıyla örtüşürken dalakta aşı suşunun saptanamaması sunulan tez çalışmasıyla uyumlu değildir. Jeurissen vd. (1998) İmmunkompleks aşıyla aşılanan hayvanlarda aşılama sonrası günlerde aşı suşunu bursa Fabricius ve dalakta saptamaya yönelik yaptıkları analizlerde aşılama sonrası 7. günde bursa Fabricius ve dalakta aşı suşunu saptamaya başlamışlar sürü yaşı arttıkça saptamaya devam etmişlerdir. Corley vd. (2002) maternal antikor bulunmayan SPF hayvanlara immunkompleks aşırı yumurta içine enjeksiyonla uygulamışlardır. Aşı suşunu bursa Fabricius ve dalakta teşhisine yönelik çalışmalar yapmış ve aşı suşunun aşılama sonrası 6. günde hem bursa Fabricius ve hem de dalakta saptamışlardır. Yapılan bu iki çalışma ile sunulan tez çalışmasının sonuçları benzer olsa da yapılan çalışmalarda yumurta içine enjeksiyon yapılmış ve dokularda daha erken aşı suşu tespit edilmiştir. Sharma vd. (1984) yumurta içine enjeksiyon aşırı ile kuluçka aşırılamalarını karşılaştırmışlar ve yumurta içine aşırılama yapıldığında virüs partiküllerinin hedef organlara daha yüksek miktarlarda ve daha erken ulaştığını belirtmişlerdir. Elankumaran vd. (2002) bursa Fabricius' ta aşılama sonrası dört hafta sonra aşı suşunu saptamışlardır. Bu bulgu sunulan tez çalışmasıyla benzer bulunmuştur.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Sunulan tez çalışması kapsamında İnfeksiyöz Bursal Hastalığa karşı uygulanan immunkompleks aşılarda etkinliği ortaya konulmuştur. Aşı etkinliği kuluçka enjeksiyon uygulama başarısı, serolojik analizler, moleküler analizler, makroskopik ölçümler ve broiler besi performans verileriyle araştırılmıştır. Tüm bu analizler göz önünde bulundurulduğunda sunulan tez çalışması İnfeksiyöz Bursal Hastalığa karşı uygulanan immunkompleks aşılarda etkinliğinin izlendiği Türkiye’de temel çalışma olmuştur. Sunulan tez çalışmasında elde edilen bulgular değerlendirilerek ortaya konulan sonuç ve öneriler aşağıda maddeler halinde sunulmuştur.

1. Elde edilen kuluçkahane enjeksiyon uygulama başarısı değerlendirildiğinde; bu uygulamanın direkt olarak aşılama etkinliğini etkileyen bir işlem olduğu gözlenmiş ve enjeksiyon başarı kontrollerinin kuluçkahanelerde mutlaka yapılması gerektiği kanısına varılmıştır.
2. Makroskopik ölçümler sonucu elde edilen bulgulara göre bursa Fabricius/vücut ağırlığı oranı ve bursal skorlamalar fizyolojik gelişim sonuçlarıyla paralellik gösterdi. Bu sonuç aşı suşunun bursa Fabricius ve dalağa ulaşarak çoğalmasına rağmen herhangi bir bursal deplesyon ve B hücre sayısında azalmaya neden olmadığını gösterdi. Dolayısıyla aşının immunsupresyon olgusuna neden olmadığı düşünüldü.
3. Broiler performans bulguları incelendiğinde kümesler arasında değişiklik gözlenmesi nedeniyle farklı maternal antikor titreleri, immün sistem organlarında aşı suşunun varlığı ve immün sistem organlarının boyutlarıyla direkt olarak bağlantılı olmadığı kanısına varıldı.
4. Yapılan serolojik analizlerde aşılama sonrası 21. gün itibarıyla maternal antikorların tamamen yarılandığı ve aşılama sonrası oluşan antikor yanıtın bu günlerde başladığı tespit edildi. Aşılama sonrası 21. günde oluşmaya başlayan antikor yanıtın sürülerin kesim yaşına kadar arttığı ve kesim yaşında en yüksek seviyelere ulaştığı görüldü. Ayrıca kümesler arasında farklı maternal antikor düzeylerinin kümeslerdeki antikor yanıtı etkilediği düşünüldü. Yüksek maternal antikor titresine sahip kümeslerde antikor yanıtın daha geç başladığı ve buna

bağlı olarak kesim yaşında daha düşük seviyede antikor yanıt oluştuğu dikkati çekti. Bu durumun tam tersi de sunulan tez çalışmasında doğrulandı. Düşük maternal antikor titresine sahip kümeslerde antikor yanıtın daha erken başladığı ve kesim yaşında daha yüksek antikor seviyelerine ulaştığı görüldü.

5. Elde edilen moleküler analiz bulgularına göre erken dönemde bursa Fabricius'ta aşı suşu saptanamazken dalakta daha erken dönemde aşı suşu saptandı. Bu bulgu aşı suşunun önce dalağa ulaştığını, ardından bursa Fabricius'a göç ettiğini gösterdi. Kesim yaşına kadar bursa Fabricius'ta aşı suşu saptanabilirliği artarken dalakta aşılama sonrası 28. günde aşı suşunun saptanabilirliği kesim yaşına kadar azaldığı görüldü. Bu bulgu aşı suşunun ilerleyen yaşlarda tamamen dalağı terk ettiği ve bursa Fabricius'a yerleştiği saptandı. Bu sonuçlar immunkompleks aşılama etkinliği araştırmalarında erken dönemde dalak ilerleyen yaşlarda ise bursa Fabricius numunesinin RT-qPCR ile incelenmesinin olumlu sonuçlar vereceğini gösterdi.
6. Moleküler ve serolojik bulgular karşılaştırmaları değerlendirildiğinde erken dönemde bursa Fabricius'ta RT-qPCR ile aşı suşunun saptandığı kümesin maternal antikor seviyesi incelendiğinde en düşük seviyeye sahip olduğu görüldü. Bu sonuç düşük maternal antikor seviyelerine sahip kümeslerde aşı suşunun bursa Fabricius'a daha erken ulaştığını gösterdi. Maternal antikor seviyeleri yüksek olan kümeslerde de aşı suşunun organlara göçü daha geç olmaktaydı. Bu sonuçlar immunkompleks aşılama etkinliği düşük ve yüksek maternal antikor seviyelerinde farklı antikor yanıt oluşturduğunu gösterdi.
7. IBD'ye karşı uygulanacak immunkompleks aşılama etkinliklerinin izlenmesinde RT-qPCR testinin oldukça net sonuçlar verdiği görüldü. Ancak sürülerin maternal antikor düzeylerinin bilinmesinin aşıdan beklenen hedefin anlaşılmasında önemli olduğu ispatlandı. Maternal antikor titrelerinin serolojik olarak takibinden sonra elde edilen bulgulara göre kümeslerde aşılama etkinliğinin izlenmesi için en uygun sürü yaşı ve kullanılacak organların seçiminin planlanması aşılama etkinliğinin izlenebilirliğini kolaylaştıracaktır.
8. Aşılama başarısının RT-qPCR ile kontrolünün maternal antikor seviyesine göre 28. güne ilave olarak 21. günde de yapılmasının uygun olacağı düşünüldü.

9. İmmunkompleks aşılarda etkinliği izlenmek istiyorsa aynı hayvana ait hem bursa Fabricius hem de dalak numunesinde aşı suşunun varlığının eş zamanlı olarak RT-qPCR ile izlenmesi önerilmektedir.
10. Ayrıca aşılamadan sonraki 28. günde kümesi temsilen belli sayıda hayvanın bursal skorlanmasının yapılması ve bulguların moleküler analiz bulgularıyla karşılaştırması da aşının izlenmesinde kullanılabilecek bir diğer metot olarak düşünülmektedir.

Aşılama programlarının düzenlenmesi, hedef antikor seviyelerinin oluşturulması, saha virüsüne karşı oluşabilecek tehlikelerin erken dönemde farkına varılması ve sürülerin hastalığa bağlı kayıplarının önlenmesi açısından immunkompleks aşı ile aşılanan broiler sürülerde aşılama etkinliğinin izlenmesi oldukça önemli olmaktadır. Kümeslerin aşılama etkinliklerinin izlenmesinde farklı maternal antikor seviyelerinin belirlenerek aşı suşlarının göç ettiği organlar RT-qPCR analizleri oldukça iyi sonuçlar vermektedir. Hastalık kontrolünün ekonomik boyutunun belirlenmesi için ilave çalışmalar yapılarak, kanatlı endüstrisine ekonomik etkisinin anlaşılması önemli olacaktır.

KAYNAKLAR

- Akan, M. (2002). *Kanatlı hayvan hastalıkları*. Medisan yayınevi: Ankara.İzgür M. (ed).
- Aliy, A., Shiferaw, S., Shegu, D., Senbeta, B., Guyassa, C., & Bulbula, A. (2020). Diagnostic Techniques Of Infectious Bursal Disease Virus: A Review. *Life Sci*, 17(6), 1-16. <https://doi.org/10.7537/marslsj170620.01>.
- Ao, X. & Kim, I.H. (2020). Effects of dietary lipid sources on growth performance and carcass traits in Pekin ducks. *Poult Sci* 99(1), 499-504. <https://doi.org/10.3382/ps/pez558>
- Arshad, R.W., Aslam, A., Imran, M.S., Ashraf, K. & Akhtar, R. (2019). Comparative evaluation of live vector, immune complex and intermediate plus vaccines of infectious bursal disease in broiler chicken. *Pak J Zool*, 51(5), 1837-1841. <http://dx.doi.org/10.17582/journal.pjz/2019.51.5.1837.1841>
- Ashraf, S., Abdel-Alim, G. & Saif, Y.M. (2006). Detection of antibodies against serotypes 1 and 2 infectious bursal disease virus by commercial ELISA kits. *Avian Dis*, 50(1), 104-109. <https://doi.org/10.1637/7436-090805R.1>
- Bayliss, C.D., Peters, R.W., Cook, J.K., Reece, R.L., Howes, K., Binns, M.M. & Boursnell, M.E.G. (1991). A recombinant fowlpox virus that expresses the VP2 antigen of infectious bursal disease virus induces protection against mortality caused by the virus. *Arch. Virol*, 120(3-4), 193-205. <https://doi.org/10.1007/bf01310475>
- Bilir, A. (2008). *Yumurtacı tavuklarda Infectious Bursal Disease'e (IBD) karşı uygulanan aşılama programlarının karşılaştırılması*. [Yüksek Lisans Tezi]. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Afyon.
- Böttcher, B., Kiselev, N.A., Stel'mashchuk, V.Y., Perevozchikova, N.A., Borisov, A.B. & Crowther, R.A. (1997). Three-dimensional structure of infectious bursal disease virus determined by electron cryomicroscopy. *Virol J*, 71(1), 325-330. <https://doi.org/10.1128/jvi.71.1.325-330.1997>
- Camilotti, E., Moraes, L.B.D., Furian, T.Q., Borges, K.A., Moraes, H.L.D.S. & Salle, C.T.P. (2016). Infectious bursal disease: pathogenicity and immunogenicity of vaccines. *Braz. J. Poult Sci*, 18, 303-308. <https://doi.org/10.1590/1806-9061-2015-0148>
- Cao, Y., Shi, Q., Ma, J., Xie, Q. & Bi, Y. (2005). Vaccination against Very Virulent Infectious Bursal Disease Virus Using Recombinant T4 Bacteriophage Displaying Viral Protein VP2. *Acta Biochim Biophys Sin*, 37(10), 657-664. <https://doi.org/10.1111/j.1745-7270.2005.00101.x>
- Cazaban, C., Masferrer, N.M., Pascual, R.D., Espadamala, M.N., Costa, T. & Gardin, Y. (2015). Proposed bursa of fabricius weight to body weight ratio standard in commercial broilers. *Poult Sci J*, 94(9), 2088-2093. <https://doi.org/10.3382/ps/pev230>
- Cazaban, C., Swart, WBF., Rietema, RMW., Wit, J., Palya, V. & Gardin, Y. (2018). Field assessment of an immune-complex infectious bursal disease vaccine in chicks born to non-

hyperimmunized broiler breeders. *Int J Vet Sci Anim Husb.*, 6, 302. <http://dx.doi.org/10.15744/2348-9790.6.302>

- Charoenvisal, N., Areeraksakul, P., Mah, C.K. & Sirikobkul, N. (2022). Efficacy of immune complex infectious bursal disease vaccines against very virulent infectious bursal disease virus challenge in commercial layer chicken. *Thai J Vet Med*, 52(3), 591-600. <https://doi.org/10.56808/2985-1130.3253>
- Corley, M.M., Giambrone, J.J. & Dormitorio, T. (2002). Evaluation of the immune response and detection of infectious bursal disease viruses by reverse Transcriptase–Polymerase chain reaction and Enzyme-Linked immunosorbent assay after in Ovo vaccination of commercial broilers. *Avian Dis*, 46(4), 803–809. [https://doi.org/10.1637/0005-2086\(2002\)046](https://doi.org/10.1637/0005-2086(2002)046)
- Corley, M.M., Giambrone, J.J. & Dormitorio, T.V. (2001). Detection of infectious bursal disease vaccine viruses in lymphoid tissues after in ovo vaccination of specific-pathogen-free embryos. *Avian dis*, 897-905.
- Cosgrove, A.S. (1962). An apparently new disease of chickens: Avian nephrosis. *Avian Dis*, 6(3), 385. <https://doi.org/10.2307/1587909>
- Dačić, M., Žugić, G. & Petković, J. (2008). The effects of a Gumboro disease control program on the reduction of economic losses. *Acta Vet-beograd*, 58(1), 53–62. <https://doi.org/10.2298/avb0801053d>
- Darteil, R., Bublot, M., Laplace, E., Bouquet, J., Audonnet, J. & Rivière, M. (1995). Herpesvirus of Turkey Recombinant Viruses Expressing Infectious Bursal Disease Virus (IBDV) VP2 Immunogen Induce Protection against an IBDV Virulent Challenge in Chickens. *Virology*, 211(2), 481–490. <https://doi.org/10.1006/viro.1995.1430>
- De Wit, J.J. (2001). Gumboro disease: estimation of optimal time of vaccination by the Deventer formula. *Annual report and proceedings of COST Action*, 839, 170-178.
- Dey, S., Pathak, D.C., Narayan, R., Maity, H.K. & Chellappa, M.M. (2019). Infectious bursal disease virus in chickens: prevalence, impact, and management strategies. *Vet Med Res*, (10)85–97. <https://doi.org/10.2147/vmrr.s185159>
- Elankumaran, S., Heckert, R.A. & Moura, L. (2002). Pathogenesis and tissue distribution of a variant strain of infectious bursal disease virus in commercial broiler chickens. *Avian dis*, 46(1), 169-176.
- El-Fetouh, A., Hafez, M.H., El-Attar, E.R. & Ezzat El-Agamy, M. (2020). Immune-complex infectious bursal disease virus versus live attenuated vaccines to protect SPF chicken against very virulent virus challenge. *J World's Poult Res*, 10(4), 556-564. <http://dx.doi.org/10.36380/jwpr.2020.63>
- El-Kady, M.F., Dahshan, A.M. & Madbouly, H.M. (2008). Studies on susceptibility of native and white Lohmann layer chickens breeds to infectious bursal disease virus isolate FY. 97. *J Vet Med Res*, 18(1), 110-119. <https://doi.org/10.21608/jvmr.2008.77857>
- Eterradossi, N., Saif, Y.M. (2020). Infectious Bursal Disease. *Diseases of poultry*, (14)257-283. New

Jersey: Wiley-Blackwell.

- Fahey, K.J., Chapman, A.J., Macreadie, I., Vaughan, P., McKern, N.M., Skicko, J.I., Ward, C.W. & Azad, A.A. (1991). A recombinant subunit vaccine that protects progeny chickens from infectious bursal disease. *Avian Pathol*, 20(3), 447–460. <https://doi.org/10.1080/03079459108418783>
- Fahey, K.J., Erny, K. & Crooks, J. (1989). A Conformational Immunogen on VP-2 of Infectious Bursal Disease Virus that Induces Virus-neutralizing Antibodies that Passively Protect Chickens. *J Gen Virol*, 70(6), 1473–1481. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-70-6-1473>
- Fernández-Arias, A., Risco, C., Martínez, S., Albar, J.P. & Rodríguez, J.F. (1998). Expression of ORF A1 of infectious bursal disease virus results in the formation of virus-like particles. *J Gen Virol*, 79 (5), 1047–1054. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-79-5-1047>
- François, A., Chevalier, C., Delmas, B., Eterradosi, N., Toquin, D., Rivallan, G. & Langlois, P. (2004). Avian adenovirus CELO recombinants expressing VP2 of infectious bursal disease virus induce protection against bursal disease in chickens. *Vaccine*, 22(17–18), 2351–2360. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2003.10.039>
- Gelb, J., Jackwood, D.J., Mundt, E., Pope, C.R., Hein, R., Slacum, G., Harris, J.M., Ladman, B.S., Lynch, P.A., Bautista, D., Ruano, J.M. & Troeber, M.M. (2012). Characterization of Infectious Bursal Disease Viruses Isolated in 2007 from Delmarva Commercial Broiler Chickens. *Avian Dis*, 56(1), 82–89. <https://doi.org/10.1637/9842-062411-reg.1>
- Giambrone, J.J., Dormitorio, T. & Brown, T. (2001). Safety and efficacy of in ovo administration of infectious bursal disease viral vaccines. *Avian Dis*, 144-148. <https://doi.org/10.2307/1593021>
- Haddad, E.E., Whitfill, C.E., Avakian, A.P., Ricks, C.A., Andrews, P.D., Thoma, J.A. & Wakenell, P.S. (1997). Efficacy of a novel infectious bursal disease virus immune complex vaccine in broiler chickens. *Avian Dis*, 882-889. <https://doi.org/10.2307/1592342>
- Hassanzadeh, M., Hassan, M., Fard, B. & Tooluo, A. (2006). Evaluation of the immunogenicity of immune complex infectious bursal disease vaccine delivered in ovo to embryonated eggs or subcutaneously to day-old chickens. *Int. J Poult Sci*, 5(1), 70-74. <http://dx.doi.org/10.3923/ijps.2006.70.74>
- Hein, R., Koopman, R., García, M., Armour, N., Dunn, J. R., Barbosa, T. & Martinez, A. (2021). Review of poultry recombinant vector vaccines. *Avian Dis.*, 65(3). <https://doi.org/10.1637/0005-2086-65.3.438>
- Heine, H. & Boyle, D.B. (1993). Infectious bursal disease virus structural protein VP 2 expressed by a fowlpox virus recombinant confers protection against disease in chickens. *Arch Virol*, 131(3–4), 277–292. <https://doi.org/10.1007/bf01378632>
- <https://www.woah.org/en/disease/infectious-bursal-disease-gumboro-disease/> (Erişim tarihi: 01.01.2024).
- Huang, Z., Elankumaran, S., Yunus, A.S. & Samal, S.K. (2004). A Recombinant Newcastle Disease Virus (NDV) Expressing VP2 Protein of Infectious Bursal Disease Virus (IBDV) Protects

against NDV and IBDV. *Virology*, 78(18), 10054–10063. <https://doi.org/10.1128/jvi.78.18.10054-10063.2004>

- Hussein, E.A., Hair-Bejo, M., Liew, P.S., Adamu, L., Omar, A.R., Arshad, S.S., Mohammed, M. & Ideris, A. (2019). Infectious bursal disease virus tissue tropism and pathogenesis of the infection in chickens by application of in situ PCR, immunoperoxase and HE staining. *Microb Pathog*, (129)195–205. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.01.049>
- Ingrao, F., Rauw, F., Lambrecht, B. & Van Den Berg, T. (2013). Infectious Bursal Disease: A complex host–pathogen interaction. *Dev Comp Immunol*, 41(3), 429–438. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2013.03.017>
- Islam, M.T., Islam, M.N., Khan, M.Z.I. & Islam, M.A. (2013). Comparison of agar gel immunodiffusion test, immunohistochemistry and reverse transcription- polymerase chain reaction for detection of infectious bursal disease virus. *Bangladesh J Vet Med*, 9(2), 121–125. <https://doi.org/10.3329/bjvm.v9i2.13452>
- Iván, J., Vellner, M., Ursu, K., Germán, P., Mató, T., Drén, C.N. & Mészáros, J. (2005). Delayed vaccine virus replication in chickens vaccinated subcutaneously with an immune complex infectious bursal disease vaccine: quantification of vaccine virus by real-time polymerase chain reaction. *Can. J. Vet. Res.*, 69(2), 135.
- Jackwood, D.J. (2004). Recent trends in the molecular diagnosis of infectious bursal disease viruses. *Anim Health Res Rev*, 5(2), 313–316. <https://doi.org/10.1079/ahr200490>
- Jackwood, D.J. (2015). Infectious Bursal Disease. *Manual of poultry diseases* (ss. 215-219). Paris: AFAS.
- Jeurissen, S., Janse, E., Lehrbach, P.R., Haddad, E.E., Avakian, A.P. & Whitfill, C.E. (1998). The working mechanism of an immune complex vaccine that protects chickens against infectious bursal disease. *Immunol*, 95(3), 494–500. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2567.1998.00617.x>
- Kumar, K., Singh, K. & Prasad, C.B. (2000). Immune responses to intermediate strain IBD vaccine at different levels of maternal antibody in broiler chickens. *Trop Anim Health Prod*, 32(6), 357–360. <https://doi.org/10.1023/a:1005225501513>
- Lasher, H.N. & Davis, V.S. (1997). History of infectious bursal disease in the U.S.A.--the first two decades. *Avian Dis*, 41(1), 11–19.
- Latif, I.K., Majed, H.M and Sahar, H. (2014). Determine the weight of thymus, bursa of Fabricius and spleen and its ratio to body weight in some diseases of broilers. *Mirror of Research in Veterinary Sciences and Animals (MRVSA)*, 3(1), 8-14. <https://doi.org/10.22428/mrvsa.2307-8073.2014.00312.x>
- Li, Z., Wang, Y., Xue, Y., Li, X., Cao, H. & Zheng, S.J. (2012). Critical role for voltage-dependent anion channel 2 in infectious bursal disease virus-induced apoptosis in host cells via interaction with VP5. *J Virol*, 86(3), 1328–1338. <https://doi.org/10.1128/JVI.06104-11>
- Liu, M. & Vakharia, V.N. (2006). Nonstructural protein of infectious bursal disease virus inhibits apoptosis at the early stage of virus infection. *Virology*, 80(7), 3369–3377. <https://doi.org/10.1128/jvi.80.7.3369-3377.2006>

- Liu, Y., Wei, Y., Wu, X. & Yu, L. (2005). Preparation of ChIL-2 and IBDV VP2 fusion protein by baculovirus expression system. *Cell Mol Immunol*, 2(3), 231-235.
- Lupini, C., Quaglia, G., Mescolini, G., Russo, E., Salaroli, R., Forni, M. & Catelli, E. (2020). Alteration of immunological parameters in infectious bronchitis vaccinated-specific pathogen-free broilers after the use of different infectious bursal disease vaccines. *Poult Sci J*, 99(9), 4351-4359.
- Luque, D., Saugar, I., Rodríguez, J.F., Verdaguer, N., Garriga, D., Martín, C.S., Velázquez-Muriel, J., Trus, B. L., Carrascosa, J.L. & Castón, J.R. (2007). Infectious bursal disease virus CaPsiD assembly and maturation by structural rearrangements of a transient molecular switch. *Virology*, 81(13), 6869–6878. <https://doi.org/10.1128/jvi.00077-07>
- Mahgoub, H.A. (2012). An overview of infectious bursal disease. *Arch Virol*, 157(11), 2047–2057. <https://doi.org/10.1007/s00705-012-1377-9>
- Malik, M.W., Ayub, N. & Qureshi, I.Z. (2006). Passive immunization using purified IgYs against infectious bursal disease of chickens in Pakistan. *J Vet Sci*, 7(1), 43-46. <https://doi.org/10.4142/jvms.2006.7.1.43>
- Martínez-Torrecuadrada, J.L., Saubi, N., Pagès-Manté, A., Castón, J.R., Espuña, E. & Casal, J.I. (2003). Structure-dependent efficacy of infectious bursal disease virus (IBDV) recombinant vaccines. *Vaccine*, 21(23), 3342–3350. [https://doi.org/10.1016/s0264-410x\(02\)00804-6](https://doi.org/10.1016/s0264-410x(02)00804-6)
- Mazariegos, L.A., Lukert, P.D. & Brown, J. (1990). Pathogenicity and immunosuppressive properties of infectious bursal disease “Intermediate” strains. *Avian Dis*, 34(1), 203. <https://doi.org/10.2307/1591353>
- Michel, L.O. & Jackwood, D.J. (2017). Classification of infectious bursal disease virus into genogroups. *Arch Virol*, 162(12), 3661–3670. <https://doi.org/10.1007/s00705-017-3500-4>
- Moraes, H.L.D.S., Salle, C.T.P., Padilha, A.P., Nascimento, V.P.D., Souza, G.F.D., Pereira, R.A., Artencio J.O. & Salle, F.D.O. (2004). Infectious bursal disease: evaluation of pathogenicity of commercial vaccines from Brazil in specific pathogen free chickens. *Braz J Poult Sci*, 6, 243-247. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-635X2004000400009>
- Muniz, E.C., Resende, M.S., Silva, A.F.A., Verdi, R., Di Fabio, J. & Bordin, E.L. (2018). Histopathology and serology reaction to an immune complex infectious bursal disease vaccine (V877 strain) in SPF and commercial birds. *Ars Vet*, 34(2), 69-76. <http://dx.doi.org/10.15361/2175-0106.2018v34n2p69-76>
- Murphy, F.A., Gibbs, E.P.J., Horzinek, M.C. & Studdert, M.J. (1999). *Veterinary virology*. Elsevier.
- Müller, H., Mundt, E., Etteradossi, N. & Islam, M.R. (2012). Current status of vaccines against infectious bursal disease. *Avian Pathol*, 41(2), 133–139. <https://doi.org/10.1080/03079457.2012.661403>
- Müller, H., Schnitzler, D., Bernstein, F., Becht, H., Cornelissen, D. & Lütticken, D. (1992). Infectious bursal disease of poultry: antigenic structure of the virus and control. *Vet Microbiol*, 33(1–4), 175–183. [https://doi.org/10.1016/0378-1135\(92\)90045-u](https://doi.org/10.1016/0378-1135(92)90045-u)

- Nishizawa, M., Paulillo, A.C., Bernardino, A., Alessi, A.C., Sayd, S., Okada, L.S.N. & Doretto Júnior, L. (2022). Evaluation of anatomopathological, serological, immunological responses and protection in broilers vaccinated with live infectious bursal disease vaccines. *Arquivos do Instituto Biológico*, 74, 219-226.
- Nuradji, H., Adji, R.S. & Besticia, Q.A. (2021). The effect of heat and disinfectants on the viability of infectious bursal disease virus. *BIO Web Conf*, 33, 06008. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20213306008>
- Orakpoghenor, O., Oladele, S.B. & Abdu, P.A. (2020). Infectious bursal disease: transmission, pathogenesis, pathology and control - An overview. *Worlds Poult Sci J*, 76(2), 292–303. <https://doi.org/10.1080/00439339.2020.1716652>
- Phong, S.F., Hair-Bejo, M., Omar, A.R. & Aini, I. (2003). Sequence analysis of Malaysian infectious bursal disease virus isolate and the use of reverse transcriptase nested polymerase chain reaction enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of VP2 hypervariable region. *Avian Dis*, 47(1), 154-162
- Raji, A.A., Mohammed, B., Oladele, S.B., Saidu, L., Jibril, A.H. & Cazaban, C. (2017). Bursa body index as a visual indicator for the assessment of bursa of Fabricius. *J Vet Med Anim Health*, 9(2), 32-38. <https://doi.org/10.5897/JVMAH2016.0456>
- Rautenschlein, S., Kraemer, C., Vanmarcke, J. & Montiel, E. (2005). Protective efficacy of intermediate and intermediate plus Infectious bursal disease virus (IBDV) vaccines against very virulent IBDV in commercial broilers. *Avian Dis*, 49(2), 231–237. <https://doi.org/10.1637/7310-112204r>
- Rautenschlein, S., Yeh, H. Y. & Sharma, J.M. (2002). The role of T cells in protection by an inactivated infectious bursal disease virus vaccine. *Vet. Immunol. Immunopathol*, 89(3-4), 159-167. [https://doi.org/10.1016/S0165-2427\(02\)00202-7](https://doi.org/10.1016/S0165-2427(02)00202-7)
- Ray, S.M., Ashash, U. & Muthukumar, S. (2021). A field study on the evaluation of day-of-hatch and in grow-out application of live infectious bursal disease virus vaccine in broiler chickens. *Poult Sci*, 100(8), 101252. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101252>
- Rosenberger, J.K., Cloud, S.S. & Metz, A. (1987). Use of infectious bursal disease virus variant vaccines in broilers and broiler breeders, In *Proceedings of the 36th Poultry Diseases Conference*, 105 – 109. Davis, California, USA.
- Rosenberger, J.K., Saif, Y.M. & Jackwood, D.J. (2008). Infectious Bursal Disease. *A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens*, (5)188-189. Athens: American Association of Avian Pathologists.
- Sareyyüpoğlu, B. & Akan, M. (2006). Restriction fragment length polymorphism typing of infectious bursal disease virus field strains in Turkey. *Avian Dis*, 50(4), 545–549. <https://doi.org/10.1637/7524-030606R1.1>
- Schijns, V.E., Sharma, J.M. & Tarpey, I. (2008). Practical aspects of poultry vaccination. In *Elsevier eBooks* (pp. 373–393). <https://doi.org/10.1016/b978-012370634-8.50023-8>
- Sedeik, M.E., El-Shall, N.A., Awad, A.M., Abd El-Hack, M.E., Alowaimer, A.N. & Swelum, A.A. (2019). Comparative evaluation of HVT-IBD vector, immune complex, and live IBD vaccines against vvIBDV in commercial broiler chickens with high maternally derived

antibodies. *Animals*, 9(3), 72. <https://doi.org/10.3390%2Fani9030072>

- Sharma, J.M., Kim, I.J., Rautenschlein, S. & Yeh, H.Y. (2000). Infectious bursal disease virus of chickens: pathogenesis and immunosuppression. *Dev. Comp. Immunol*, 24(2–3), 223–235. [https://doi.org/10.1016/s0145-305x\(99\)00074-9](https://doi.org/10.1016/s0145-305x(99)00074-9)
- Sharma, J.M., Lee, L. F. & Wakenell, P.S. (1984). Comparative viral, immunologic, and pathologic responses of chickens inoculated with herpesvirus of turkeys as embryos or at hatch. *Am J Vet Res*, 45(8), 1619–1623.
- Singh, J., Banga, H.S., Brar, R.S., Singh, N., Sodhi, S.S. & Leishangthem, G.D. (2015). Histopathological and immunohistochemical diagnosis of infectious bursal disease in poultry birds. *Vet World*, 8(11), 1331–1339. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2015.1331-1339>
- Stoute, S.T., Jackwood, D.J., Sommer-Wagner, S.E., Cooper, G.L., Anderson, M.L., Woolcock, P.R. & Charlton, B. R. (2009). The diagnosis of very virulent infectious bursal disease in California pullets. *Avian Dis*, 53(2), 321–326. <https://doi.org/10.1637/8684-030909-Case.1>
- Taghavian, O., Spiegel, H., Hauck, R., Hafez, H.M., Fischer, R. & Schillberg, S. (2013). Protective oral vaccination against infectious bursal disease virus using the major viral antigenic protein VP2 produced in *Pichia pastoris*. *PLoS One*, 8(12), e83210. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0083210>
- Tang, N., Zhang, Y., Shen, Z., Yao, Y. & Nair, V. (2021). Application of CRISPR-CAS9 editing for virus engineering and the development of recombinant viral vaccines. *CRISPR J*, 4(4), 477–490. <https://doi.org/10.1089/crispr.2021.0017>
- Teshome, M., Fentahunand, T. & Admassu, B. (2015). Infectious bursal disease (Gumboro disease) in Chickens. *Br Poult Sci*, 4(1), 22–28. <https://10.5829/idosi.bjps.2015.4.1.95172>
- Tsukamoto, K., Saito, S., Saeki, S., Sato, T., Tanimura, N., Isobe, T., Mase, M., Imada, T., Yuasa, N. & Yamaguchi, S. (2002). Complete, Long-Lasting Protection against Lethal Infectious Bursal Disease Virus Challenge by a Single Vaccination with an Avian Herpesvirus Vector Expressing VP2 Antigens. *Virol J*, 76(11), 5637–5645. <https://doi.org/10.1128/jvi.76.11.5637-5645.2002>
- Tsukamoto, K., Tanimura, N., Kakita, S., Ota, K., Mase, M., Imai, K. & Hihara, H. (1995). Efficacy of Three Live Vaccines against Highly Virulent Infectious Bursal Disease Virus in Chickens with or without Maternal Antibodies. *Avian Dis*, 39(2), 218. <https://doi.org/10.2307/1591863>
- Türe, O. & Çöven, F. (1999). Isolation and Serological Characterization of Highly Virulent Viruses From Infectious Bursal Disease Outbreaks in Turkey. *Turkish J Vet Anim Sci*, 23(3), 243–254.
- Vakharia, V.N., He, J., Ahamed, B. & Snyder, D.B. (1994). Molecular basis of antigenic variation in infectious bursal disease virus. *Virus Res*, 31(2), 265–273. [https://doi.org/10.1016/0168-1702\(94\)90009-4](https://doi.org/10.1016/0168-1702(94)90009-4)
- Vakharia, V.N., Snyder, D.B., He, J., Edwards, G.H., Savage, P.K. & Mengel-Whereat, S.A. (1993). Infectious bursal disease virus structural proteins expressed in a baculovirus recombinant confer protection in chickens. *J Gen Virol*, 74(6), 1201–1206. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-74-6-1201>

- Van den Berg, T. (2008). Birnaviridae. *Poultry diseases 6th ed.* (ss. 359-366). Philadelphia: Elsevier.
- Van Den Berg, T.P. (2000). Acute infectious bursal disease in poultry: A review. *Avian Pathol*, 29(3), 175–194. <https://doi.org/10.1080/03079450050045431>
- Wang, X.Y., Wang, B. & Wen, Y.M. (2019). From therapeutic antibodies to immune complex vaccines. *NPJ Vaccines*, 4(1), 2. <http://dx.doi.org/10.1038/s41541-018-0095-z>
- Whitfill, C.E., Haddad, E.E., Ricks, C.A., Skeeles, J.K., Newberry, L.A., Beasley, J.N., Andrews, P., Thoma, J.A. & Wakenell, P.S. (1995). Determination of Optimum Formulation of a Novel Infectious Bursal Disease Virus (IBDV) Vaccine Constructed by Mixing Bursal Disease Antibody with IBDV. *Avian Dis*, 39(4), 687. <https://doi.org/10.2307/1592404>
- Withers, D.R., Young, J.R. & Davison, T. (2005). Infectious Bursal Disease Virus-Induced Immunosuppression in the Chick Is Associated with the Presence of Undifferentiated Follicles in the Recovering Bursa. *Viral Immunol*, 18(1), 127–137. <https://doi.org/10.1089/vim.2005.18.127>
- Wu, C.C., Lin, T.L., Zhang, H.G., Davis, V.S. & Boyle, J.A. (1992). Molecular detection of infectious bursal disease virus by polymerase chain reaction. *Avian Dis*, 221-226. <https://doi.org/10.2307/1591494>
- Wu, H., Singh, N.K., Locy, R.D., Scissum-Gunn, K. & Giambrone, J.J. (2004). Immunization of Chickens with VP2 Protein of Infectious Bursal Disease Virus Expressed in *Arabidopsis thaliana*. *Avian Dis*, 48(3), 663–668. <https://doi.org/10.1637/7074>
- Wyeth, P. & Chettle, N. (1990). Use of infectious bursal disease vaccines in chicks with maternally derived antibodies. *PubMed*, 126(23), 577–578.
- Yılmazlar, M. (2006). *Broyler piliçlerde Gumboro aşılamaalarının ELISA ile antikor seyrinin takibi* [Yüksek Lisans Tezi]. Adnan Menderes Üniversitesi, Aydın.
- Zorman Rojs, O., Krapež, U., Slavec, B., Juršič-Cizerl, R. & Poljanec, T. (2011). Field efficacy of different vaccines against infectious bursal disease in broiler flocks. *Acta Vet Hun*, 59(3), 385-398. <https://doi.org/10.1556/avet.2011.016>

EKLER

Ek-1. Etik Raporu



T.C.
ANKARA ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI

TOPLANTI TARİHİ : 02/02/2022
TOPLANTI NO : 2022-3
DOSYA NO : 2022-9
KARAR NO : 2022-3-23

Yürürlüğünü Üniversitemiz Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Hakan YARDIMCI'nın yaptığı; araştırması olarak Akın ÜNAL'ın katıldığı "Broiler sürülerde enfeksiyöz Bursal Hastalık'a karşı uygulanan immün kompleks aşının etkinliğinin izlenmesi" başlıklı çalışmaya Üniversite senatosunun 12/2/2016 tarihli toplantısında 430/3642 sayılı kararı ile kabul edilen ve Hayvan Deneyleri Merkezi Etik Kurulu'nun 19/2/2016 tarih ve 42 sayılı kararı ile onaylanan "Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi" nin 7-h maddesi kapsamında değerlendirilmiş ve çalışmanın Etik Kurul iznine tabi olmadığına oy birliği ile karar verilmiştir.

Geçerlilik Süresi : 05/02/2022-05/02/2024

ETİK KURUL ÜYELERİ				
Unvanı / Adı / Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İmza
Prof. Dr. M. Taner KARAOĞLU (Başkan)	Viroloji Anabilim Dalı	Veteriner Fakültesi	E	
Prof. Dr. Tanju ÖZÇELİKAY (Başkan Vekili)	Farmakoloji Anabilim Dalı	Eczacılık Fakültesi	E	
Prof. Dr. Emine DEMİREL YILMAZ (Üye)	Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	K	
Prof. Dr. Nuri YİĞİT (Üye)	Zooloji Anabilim Dalı	Fen Fakültesi	E	
Prof. Dr. Mine KIRKAĞAÇ (Üye)	Su Ürünleri Mühendisliği Bölümü	Ziraat Fakültesi	K	
Doç. Dr. Halit KANCA (Üye)	Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı	Veteriner Fakültesi	E	
Doç. Dr. Gülnur GÖLLÜ BAHADIR (Üye)	Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	K	
Doç. Dr. Neşe Nuray TOPRAK (Üye)	Yemler ve Hayvan Besleme Anabilim Dalı	Ziraat Fakültesi	K	

Dr. Vet. Hek. Nigar YERLİKAYA (Üye)	Veteriner Hekimliği Tarihi ve Deontoloji Anabilim Dalı	Veteriner Fakültesi	K
Dr. Vet. Hek. Gürbüz ERTÜRK (Üye)	Active Veteriner Sağlık Merkezi	Serbest	E
Uzm. Vet. Hek. Hüseyin DEDE (Üye)	Veteriner Hekimler Derneği	Serbest	E
Uzm. Vet. Hek. Anıla IŞGÖREN (Üye)	Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Laboratuvarı	Tıp Fakültesi	E
Fatma Aysun COŞKUN (Üye)	İktisat	Serbest	K

Ek-2. Kurum izni

