

AVIAN ENCEPHALOMYELITİS (AE) VİRUSU İLE ENFEKTE EDİLMİŞ KAZ (ANSER ANSER) EMBRİYOLARINDA PATOLOJİK İNCELEMELER*

İhsan YAMAN¹, Harun ÖZER²

¹ Fırat Üniversitesi Sivrice Meslek Yüksek Okulu, Elazığ-TÜRKİYE

² Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Elazığ-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 21.09.2000

Pathological Changes Induced by Avian Encephalomyelitis (AE) Virus in Developing Goose (Anser anser) Embryos

SUMMARY

The aim of this study was to investigate macroscopic and microscopic changes induced by avian encephalomyelitis virus (AEV) in goose embryos. One hundred and eighty embryonated goose eggs were used for this purpose. One hundred and twenty five of these eggs were infected and fifty five of them were used as a control group. Twelve-day-old embryos were inoculated in yolk sac with 0,1 ml viral suspension (AEV–Van Roekel strain, EID₅₀ 10⁻³).

Such macroscopic findings in embryos as stunting, hydrocephalus, torticollis, deformities in feet and knee joints, twisting in fingers were the main findings observed. Mainly the microscopic changes peculiar to the infection was observed in the central nervous system. These findings included oedema, vascular proliferation, gliosis, neuronal degeneration, and necrosis. In the skeletal muscles, degeneration, necrosis, dystrophy and sarcolemmal proliferation were observed.

Key Words: Avian encephalomyelitis, Goose embryo, Pathological findings, Experimental infection.

ÖZET

Bu çalışmada, avian encephalomyelitis virüsü'nün (AEV) kaz embriyolarına deneysel olarak inokülasyonu ile oluşan makroskopik ve mikroskopik değişimlerin incelenmesi amaçlandı. Bunun için, 125 adedi enfekte ve 55 adedi ise kontrol grubu olmak üzere toplam 180 adet embriyolu kaz yumurtası kullanıldı. Enfekte grubu oluşturan embriyolu yumurtalara, titresi EID₅₀ 10⁻³ olarak belirlenen AEV Van Roekel suşu, 1/10 oranında PBS ile sulandırılarak kuluçkanın on ikinci gününde 0,1 ml dozunda sarı kese yoluyla inoküle edildi.

Makroskopik olarak embriyoda küçükleme, hidrosefalus, tortikollis, ayaklarda çarpıklık, diz eklemlerinde bükülme ve parmaklarda kıvrılmalar gözlenen belli başlı bulgular idi.

Hastalığa özgü mikroskopik değişimler merkezi sinir sisteminde (MSS) gözlemlendi. Bu değişimler; ödem, vasküler proliferasyon, hafif gliosis, nöyron dejenerasyonu ve nekrozu ile karakterize idi. İskelet kaslarında dejenerasyon, nekroz, musküler distrofi ve sarkolemma proliferasyonu gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: Avian encephalomyelitis, Kaz embriyosu, Patolojik bulgular, Deneysel enfeksiyon.

* Doktora Tezinden Özetlenmiştir.

GİRİŞ

Avian encephalomyelitis (AE), epidemik tremor ya da civcivlerin salgın titreme hastalığı olarak bilinen bu hastalık genç tavuklarda, özellikle civcivlerde, klinik olarak baş ve boyun bölgesindeki ataksi ve tremor, bacak ve kanatlarda parezis, paralizis gibi MSS bozuklukları, erginlerde yumurta veriminde düşmeler ve embriyo ölümleri ile karakterize, bulaşıcı viral bir hastalıktır (1, 5, 10, 16, 33, 37, 39).

AE ilk olarak 1930 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde (1, 16, 39), bunu izleyen yıllarda birçok ülkede (16, 38, 39) ve 1971 yılında da ülkemizde teşhis edilmiştir (9). O zamandan bu güne kadar artan sayıda yeni salgınların olduğu bir çok araştırmacı tarafından da rapor edilmiştir (2, 10, 25, 33). Enfeksiyonun ani olarak ortaya çıkması, hızlı yayılması, oldukça şiddetli seyretmesi nedeniyle hastalığın kuluçka tavukçuları ve piliç üreticileri tarafından büyük ilgi odağı haline geldiği belirtilmiştir (37).

AEV ile doğal enfeksiyon, tavukların dışında sülün, bıldırcın, hindi ve kekliklerde de kaydedilmiştir (7, 11, 13, 16, 20, 40). Enfeksiyonda erişkin tavukların, hiçbir klinik belirti göstermeden gaitaları ile virüsü dışarı çıkararak etraflarını bulaştırdıkları ve bu bulaşık yem ve suları alan civcivlerin ise enfeksiyonu kolaylıkla aldıkları rapor edilmiştir (1, 6, 8, 16). Ayrıca, yumurta tavuklarında kısa süren bir viremi devresinde virusun yumurta yolu ile bulaşmasının önemli olduğu ifade edilmiş (8), bu yolla bulaşmanın özellikle civciv enfeksiyonlarında ciddi bir yol ve enfeksiyonun yeni nesillere taşınmasında da önemli bir faktör olduğu vurgulanmıştır (1, 6).

AE'in bazı suşlarının (Van Roekel suşu'nda olduğu gibi) embriyonun yumurtadan çıkmasından önce felç (embriyoda hareketsizlik ve sadece kalp hareketi), cücelik (dwarfizm), bacaklar ile ayaklarda çarpıklık ve parmaklarda kıvrılmalar gibi belirtilere yol açtığı kaydedilmiştir (3, 7, 13-15, 26, 35, 36).

AE'de makroskobik olarak, ergin ve civcivlerde, taşığın musküler katında lenfosit infiltrasyonlarından dolayı beyaz renkte görünen odakların saptandığı ifade edilmiştir (16, 38). Yapılan bazı çalışmalarda ise enfekte olmuş embriyolarda hidrosefalusun şekillendiği (23, 24, 26, 27, 38, 42), ayrıca enfekte hayvanların bazı vücut kaslarında, özellikle bacak kaslarında, yaygın bir atrofinin gözlemlendiği rapor edilmiştir (3, 7, 13, 18, 19, 42).

Hastalıkta histopatolojik lezyonlar tipik olup, bunların MSS'de, bazı iç organlarda ve iskelet kaslarında lokalize olduğu kaydedilmiştir (10, 15, 16, 26, 27, 31, 38, 42). MSS'deki lezyonlar nöron dejenerasyonu, perivasküler mononükleer hücre infiltrasyonları ve glia hücre infiltrasyonlarından (gliozis) ibaret diffuz veya fokal odaklar halinde nonpurulent akut bir encephalomyelitis ve dorsal kök ganglionlarında saptanan ganglionitistir (5, 8, 12, 13, 29, 39). Enfeksiyonda yaşlı tavukların çeşitli iç organlarında lenfoid odaklar halinde mononükleer hücre infiltrasyonlarının şekillendiği bildirilmiştir (1, 16, 28, 36, 39). İskelet kaslarında mikroskobik olarak kas tellerinin yer yer kaybolduğu, ödemli kas tellerinin birbirinden ayrıldığı, ayrıca düzgün yapısını kaybeden kas ipliklerinin sarkolemmal proliferasyona uğradığı ve bu liflerin arasında mononükleer tarzda hücre infiltrasyonları ve hemorajilerin şekillendiği rapor edilmiştir (15, 26, 42).

Bu çalışma ile kaz (anser anser) embriyolarında AE'nin deneysel olarak oluşturulması, embriyoların AEV'ye duyarlılıkları, embriyoda oluşan makroskobik ve mikroskobik değişimlerin ortaya konulması ile bu değişimlerin, diğer kanatlı türlerinin doğal ve deneysel enfeksiyonlarında bildirilen bulgularla karşılaştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Çalışmada, Manisa Tavuk Hastalıkları Araştırma ve Aşı Üretim Enstitüsü Müdürlüğü'nden temin edilen AEV (embriyoya adapte) Van Roekel suşu kullanıldı. Toplam 354 adet kaz yumurtasının kullanıldığı bu çalışmada, yumurtaların 222 adedi Tarım ve Köyşeri Bakanlığı, Kars İl Müdürlüğü, Kaz Üretim ve Yetiştirme İstasyonu'ndan, 132 adedi de Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nden temin edildi. Yumurtaların temin edildiği bu damızlık sürülerde o zamana kadar bir enfeksiyonun görülmediği ve herhangi bir aşılamanın yapılmadığı yetkililerce ifade edildi.

Denemede kullanılan yumurtaların ve kuluçka makinasının gerekli temizlik ve dezenfeksiyonu yapıldıktan sonra yumurtalar kuluçka makinasında ortalama %80 nem ve 37.5 °C de inkübe edildi.

Çalışma, aynı koşullarda iki kez tekrarlandı. İnkübasyonun on ikinci gününde yumurtaların embriyo canlılık kontrolü yapıldı. Bu kontrol sonunda her iki denemede kullanılan 354 adet yumurtanın 180 adedinin embriyolu olduğu saptandı.

Embriyolu yumurtaların 125 adedi enfekte, 55 adedi de kontrol grubu olarak ikiye ayrıldı (Tablo-1). Enfekte grubu oluşturan embriyolu yumurtalara inkübasyonun on ikinci gününde, titresini EID50 10^{-3} olan ve 1/10 oranında phosphate buffered saline (PBS) ile sulandırılan viral süspansiyon, sarı keseye 0.1 ml dozunda inoküle edildi. İnokülasyondan sonra ilk yetmiş iki saat içinde (12,13 ve 14. kuluçka günleri) şekillenen ölümler spesifik olmayan etkilere bağlanarak değerlendirmelerin dışında tutuldu.

İnokülasyonun dördüncü gününden başlayarak inkübasyonun sonuna kadar her gün aynı saatlerde enfekte grup embriyolardan ölenler ile birlikte belirli sayıda enfekte ve kontrol grubu yumurta açıldı. Bu yumurtalardan çıkarılan embriyoların vücut ağırlığı, but uzunluğu ve but genişliği ölçülerek tespit edildi. Elde edilen verilerin karşılaştırılmasında t-testi kullanıldı (32).

Usulüne uygun olarak nekropsileri yapılan embriyolardan histopatolojik muayeneler için öncelikle beyin, beyincik, medulla spinalis, bezli mide, musküler mide ve pankreas olmak üzere akciğer, kalp kası, karaciğer, böbrek, dalak, bursa Fabricius, iskelet kasları, gözler ve korioallantoik membrandan alınan doku örnekleri %10'luk nötral formalin solüsyonunda tespit edildi. Bilinen klasik işlemlerden geçirildikten sonra hazırlanan parafin bloklar 5µ'a ayarlanmış mikrotomda kesilip hematoxylin-eosin (H-E) ve gerektiğinde beyin,

beyincik ve medulla spinalis Woelcke ve Einarson metoduna göre boyanarak ışık mikroskopunda incelendi (17).

Mikrobiyolojik muayene için, korioallantoik sıvı, karaciğer, dalak, akciğer ve böbreklerden steril şartlarda alınan doku örneklerinden, kanlı agar ve kıymalı buyyona ekimler yapıldı.

BULGULAR

Çalışmada, ölçüm ve tartım sonuçları ile makroskobik ve mikroskobik bulgular iki ayrı deneme sonuçlarının birlikte değerlendirilmesi ile elde edildi.

Makroskobik Bulgular

I. Grup (15-16. gün) : Her iki denemede toplam 15 adet enfekte yumurtanın açıldığı bu grupta, 5 adet embriyoda ölüm ve 1 adet embriyoda da felç tablosu (embriyoda hareketsizlik ve sadece kalp hareketi) gözlemlendi (Tablo-2). Enfekte ve kontrol grubu embriyolar arasında vücut ağırlığı, but genişliği ve but uzunluğu ($P>0.05$) yönünden önemli bir farklılık saptanmadı (Şekil-1, 2, 3). Makroskobik olarak enfekte embriyolarda deri altında, özellikle boyun bölgesinde hafif şiddette ödem ve peteşiyal kanamalar tespit edildi.

Tablo-1. Çalışmada kullanılan yumurta sayısı, embriyolu yumurta sayısı, enfekte ve kontrol grubu embriyo sayısı ile değerlendirme dışı bırakılan embriyo sayısı.

Deneme No	Kuluç. Bır. Yum. Say.	Emb. Yum. Say.	Enf. Emb. Say.	Kont. Grub. Emb. Say.	Değ. Dış. Bır. Emb. Say.
I. Deneme	222	83	55	28	1
II. Deneme	132	97	70	27	7
Toplam	354	180	125	55	8

II. Grup (17-18. gün) : Toplam 15 adet enfekte yumurtanın açıldığı bu grupta, 5 adet ölü, 3 adet felçli embriyo belirlendi (Tablo-2). Bu kuluçka günlerinde diğer gruptan farklı olarak enfekte ve kontrol grubu embriyolarda vücut ağırlığı, but genişliği ve but uzunlukları enfekte embriyolarda kontrollere göre daha fazla bulunmuş olmakla birlikte ($P>0.05$), bu farklılık istatistiksel olarak önemli sayılabilecek düzeyde değildi (Şekil-1, 2, 3). Makroskobik olarak enfekte embriyolarda kontrol grubu embriyolara göre tüylerin çıkmadığı, bir önceki grupta saptanan ödem ve peteşiyal kanamaların daha belirgin ve şiddetli olduğu, ayrıca hafif şiddette hidrosefalusun geliştiği saptandı.

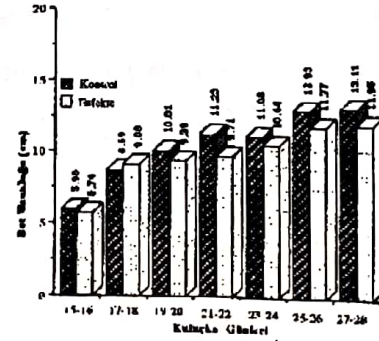
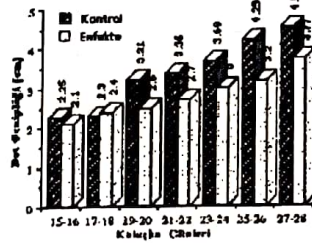
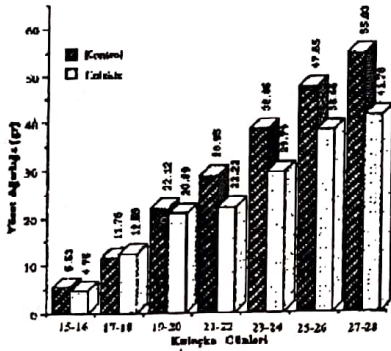
III. Grup (19-20. gün) : Bu kuluçka günlerinde 17 enfekte embriyonun 7'sinde ölüm, 3'ünde de felç gözlemlendi (Tablo-2). Birinci ve ikinci gruptan farklı olarak enfekte ve kontrol grubu embriyolar arasında but genişliği ($P<0.01$) yönünden farklılık ilk defa bu grupta saptanmış olup, istatistiksel olarak da önemli bulundu (Şekil-2). Makroskobik olarak deri altında saptanan kanamalar oldukça şiddetli olup, enfekte embriyoların but ve boyun kaslarının kontrol grubu embriyolara göre belirgin ölçüde gelişmediği (cüceleşme) belirlendi.

Tablo-2. Enfekte ve kontrol grubunda ölü, canlı, otoliz, felç ve hareketli embriyo sayılarının gruplara göre dağılımı.

GRUPLAR		I. DENEME						II. DENEME					
		Emb S	Ölü	Canlı	Otoliz	Felç	Har*	Emb S	Ölü	Canlı	Otoliz	Felç	Har*
I. GRUP	Enf.	7	3	4	0	0	4	8	2	6	0	1	5
(15-16. Gün)	Kont.	4	0	4	0	0	4	4	0	4	0	0	4
II. GRUP	Enf.	6	2	4	0	1	3	9	3	6	0	2	4
(17-18. Gün)	Kont.	4	0	4	0	0	4	4	0	4	0	0	4
III. GRUP	Enf.	7	3	4	1	2	2	10	4	6	1	1	5
(19-20. Gün)	Kont.	4	0	4	0	0	4	4	0	4	0	0	4
IV. GRUP	Enf.	7	3	4	0	1	3	10	4	6	2	2	4
(21-22. Gün)	Kont.	4	0	4	0	0	4	4	0	4	0	0	4
V. GRUP	Enf.	8	4	4	0	3	1	9	3	6	1	4	2
(23-24. Gün)	Kont.	4	0	4	0	0	4	4	0	4	0	0	4
VI. GRUP	Enf.	8	4	4	0	2	2	7	1	6	0	4	2
(25-26. Gün)	Kont.	4	0	4	0	0	4	4	0	4	0	0	4
VII. GRUP	Enf.	11	2	9	0	3	6	10	2	8	0	4	4
(27-28. Gün)	Kont.	4	0	4	0	0	4	3	0	3	0	0	3
Değ. Dışı	Enf.	1**	-	-	-	-	-	7**	-	-	-	-	-
Bır. Emb. S.	Kont.	0	-	-	-	-	-	0	-	-	-	-	-
TOPLAM	Enf.	55	21	33	1	12	21	70	19	44	4	18	26
	Kont.	28	0	28	0	0	28	27	0	27	0	0	27

* Hareketli embriyo sayısı.

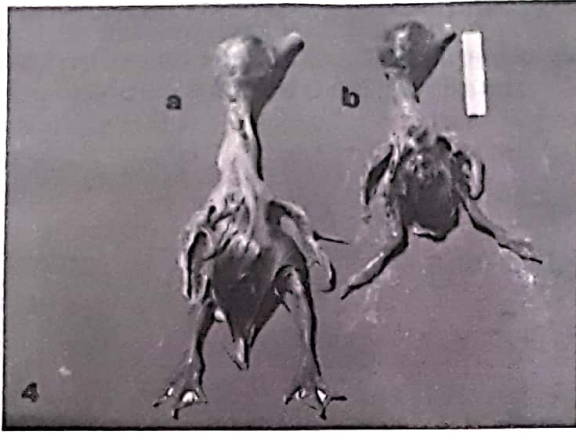
** 12,13 ve 14. kuluçka günlerinde spesifik olmayan etkilere bağlanarak şekillenmiş olan ölümler.



Şekil-1, 2, 3. Enfekte ve kontrol grubu embriyolarının vücut ağırlığı, but genişliği, but uzunluğu ile kuluçka günleri arasındaki ilişki.

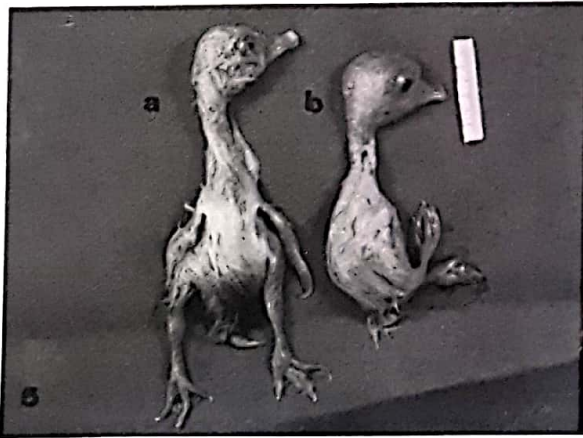
IV. Grup (21-22. gün) : Yine 17 adet yumurtanın açıldığı bu grupta da 7 adet ölü ve 3 adet felçli enfekte embriyo belirlendi (Tablo-2). Kuluçkanın bu günlerinde enfekte ve kontrol grubu embriyolar arasında vücut ağırlığı, but genişliği ve but uzunluğu yönünden önemli derecede farklılık saptanmış olup, tespit edilen bu farklılık vücut ağırlığı ($P<0.01$), but genişliği ($P<0.001$) ve but

uzunluğu ($P<0.001$) itibariyle istatistiksel olarak da önemli bulundu (Şekil-1, 2, 3). Makroskopik olarak cüceliğin bir önceki gruba göre daha belirgin olduğu, hidrosefalusun oldukça belirginleştiği (Şekil-4, 5) ve ayaklar ile ayak parmaklarında bükülme ve kıvrılmaların şekillendiği gözlemlendi.



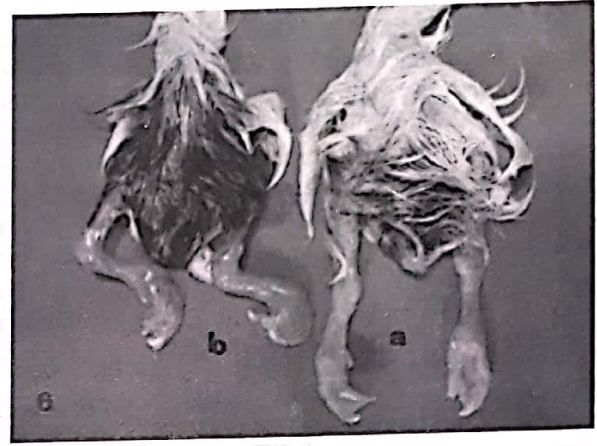
Şekil-4. Enfekte embriyolarda gelişme geriliği. a) Kontrol b) Enfekte (21. Kuluçka Günü).

V. Grup (23-24. gün) : Açılan 17 adet enfekte yumurtadan çıkan embriyoların 7'si ölü ve 7'si de felçliydi (Tablo-2). Yine enfekte ve kontrol grubu embriyolar arasında büyüklük farklılığının ve cüceliğin gözleendiği bu grupta, istatistiksel farklılık anlamlı bir şekilde ($P<0.001$) tüm vücut ölçülerinde saptandı (Şekil-1, 2, 3). Enfekte grup embriyolarda makroskobik olarak gözlenen ayak parmaklarındaki kıvrılmalar ile diz eklemlerindeki bükülmeler oldukça belirginleşmişti (Şekil-6). Hidrosefalus bu kuluçka günlerinde de devam etmekteydi.



Şekil-5. Enfekte embriyolarda gelişme geriliği ve hidrosefalus. a) Kontrol b) Enfekte (22. Kuluçka Günü).

VI. Grup (25-26. gün) : Bu grupta açılan yumurtalarda 5 adet ölü, 6 adet felçli enfekte embriyonun olduğu saptandı (Tablo-2). Ölçüm ve tartım sonuçlarına göre enfekte ve kontrol grubu embriyolar arasında istatistiksel farklılığın ($P<0.001$) bir önceki grupta olduğu gibi devam ettiği belirlendi (Şekil-1, 2, 3). Makroskobik olarak ise yine önceki grupta gözlenen bulgular mevcuttu.



Şekil-6. Enfekte embriyolarda ayaklarda çarpıklık ve parmaklarda kıvrılmalar. a) Kontrol b) Enfekte (24. Kuluçka Günü).

VII. Grup (27-28. gün) : Yirmi bir adet enfekte yumurtanın açıldığı bu kuluçka günlerinde 4 adet ölü ve 7 adet felçli embriyo belirlendi (Tablo-2). Yine istatistiksel farklılığın ($P<0.001$) devam ettiği (Şekil-1, 2, 3), makroskobik olarak ise önceki gruplarda saptanan bulgulara ilaveten enfekte embriyolarda tortikollisin şekillendiği, beyinde ödem ve hemorajilerin olduğu saptandı (Şekil-7).

Her iki denemede inokülasyonun sonuna kadarki süre içerisinde kontrol grubu yumurtalardan çıkan embriyolarda makroskobik olarak dikkat çekici bir bulgu gözlenmedi.



Şekil-7. Enfekte embriyolarda beyinde ödem ve hemoraji. (28. Kuluçka Günü).

Mikroskobik Bulgular

I. Grup (15-16. gün) : Bu grup enfekte embriyoların beyin, beyincik ve meninkslerinde

hiperemi ile birlikte özellikle optik loplarda olmak üzere, yaygın ödem dikkati çekti. Beyinde vasküler proliferasyon ile bazı nöronlarda dejenerasyonlar belirlendi. Medulla spinalisin servikal ve lumbosakral bölgeleri ile spinal ganglionlarda ödem, nöron dejenerasyonu ve nekroz gözlemlendi (Şekil-8). Karaciğerde sinuzoidal dilatasyon ve sinuzoidlerin içlerinde eritrositler saptandı. İskelet kaslarında, kas tellerinin ödemli ve şişkin görünümünde olduğu, bu tellerin birbirinden ayrıldığı ve aralarında hemorajilerin şekillendiği belirlendi.



Şekil-8. Spinal ganglionlarda nöron dejenerasyonu ve nekroz. (16. K. G.), H.E. x 132.

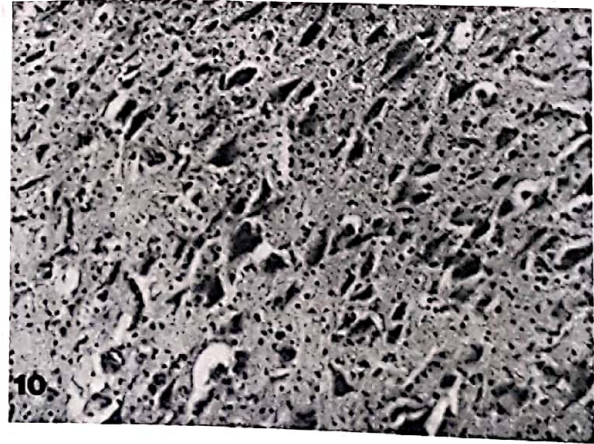
II. Grup (17-18. gün) : Beyin ve beyincikteki ödem ile hipereminin varlığı bu kuluçka gününde de tespit edildi. Ayrıca, beyincikte vasküler proliferasyonlar dikkat çekiciydi. Bunlara ilaveten, beyinde büyük nöronlarda, beyincikte ise Purkinje hücrelerinde dejenerasyon ve nekroz ile Purkinje hücre sayısında azalma söz konusu idi (Şekil-9). MSS'nin hemen hemen tümünde hafif bir glia infiltrasyonu mevcuttu. Medulla spinalisin servikal, thorakal ve sakral bölgelerinin tümü ile spinal ganglionlarda ödem, dejenerasyon ve nekrozun yanısıra hemorajilere de rastlandı. Kalp kasında endokardda fokal lenfoblastik hücre infiltrasyonları gözlemlendi. İskelet kaslarında multifokal hemorajik odaklar ile birlikte dejenerasyon dikkati çekti.

III. Grup (19-20. gün) : Bu grupta MSS'de belirlenen lezyonlar diğer gruptan daha da şiddetli olup, özellikle beyinde nöron dejenerasyonu ve nekroz ile glia hücre infiltrasyonu dikkat çekiciydi (Şekil-10). Karaciğerde hepatositlerde dejenerasyon ve nekroz gözlemlendi. İskelet kaslarında ödem, diffuz-fokal hemorajik odaklar ile birlikte musküler distrofi söz konusu idi.

IV. Grup (21-22. gün) : MSS'nin ve diğer organların incelenen tüm bölümlerindeki lezyonlar III. grup ile aynı idi. İskelet kaslarında da önceki grupta saptanan lezyonlar saptanmış olup, sarkolemma proliferasyonu ile birlikte musküler distrofi daha da belirgindi.



Şekil-9. Beyincikte Purkinje hücrelerinde dejenerasyon ve nekroz. (17. K. G.), H.E. x 66.



Şekil-10. Beyinde nöron dejenerasyonu ve nekroz ile hafif gliozis (19. K. G.), H.E. x 66.

V. Grup (23-24. gün) : Bu gruptaki enfekte embriyolarda gözlenen mikroskobik lezyonlar IV. grup ile paralellik göstermiş olmakla birlikte, beyincikte Purkinje hücrelerinde saptanan dejenerasyon ve nekroz oldukça şiddetli ve Purkinje hücre sayısında da azalma ile astrositik hücre aktivasyonu belirgindi. İskelet kaslarında ödem, hemoraji ile birlikte musküler distrofi ve sarkolemma proliferasyonu devam etmekte idi (Şekil-11).

VI. Grup (25-26. gün) : MSS'deki lezyonlar şiddetli bir şekilde devam etmekte olup, beyin ve

medulla spinaliste gözlenen dejenerasyon ve nekroz sonucu nöronların pembe hayali bir görüntü halini aldığı gözlemlendi. İskelet kaslarında saptanan lezyonlar aynı idi.



Şekil-11. İskelet kaslarında distrofi ve sarkolemma proliferasyonu. (24. K. G.), H.E. x 66.

VII. Grup (27-28. gün) : Yukarıda saptanan lezyonlara ilaveten beynin bazı damarlarının duvarında kalınlaşma saptandı. Beyin ve medulla spinaliste glia infiltrasyonu oldukça belirgin olup, bu infiltrasyon dejenerasyon ve nekrotik nöronlar etrafında yoğunlaşmıştı.

Enfekte embriyoların pankreas, bezli mide, kaslar, akciğer, böbrek, dalak, bursa Fabricius, gözler ve korioallantoik membranlar ile kontrol grubu embriyolarına ait tüm dokularda mikroskopik olarak herhangi bir değişiklik görülmedi.

Bakteriyolojik olarak yapılan incelemelerde de herhangi bir etken üretilmedi.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Gerek ülkemizde ve gerekse dünya üzerindeki birçok ülkede, doğal ve deneysel olaylarda, tavuk, hindi ve bildircin gibi kanatlı türlerinde AEV'nin izole edilmiş olması, tavuklar dışında diğer kanatlı türlerinde de hastalığa ilgili çalışmaların sürdürüldüğünü kanıtlamaktadır (7, 10, 13, 26, 31, 33, 42). Ancak kaz yetiştiriciliğindeki gelişmelere rağmen, yapılan literatür taramalarında kaz ve kaz embriyolarında AE ile ilgili doğal ya da deneysel bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu yüzden deneme süresince belirlenen makroskopik ve mikroskopik bulgular daha ziyade tavuk, hindi ve bildircin gibi kanatlılar üzerinde yapılan araştırma sonuçları ile karşılaştırılmıştır.

Çalışma süresince saptanan makroskopik ve mikroskopik bulgular tavuk, hindi ve bildircin embriyolarında bildirilen bulgulara paralellik göstermiş olmasına rağmen (3, 7, 13, 26), piliç, hindi embriyosu ve bir günlük bildircin palazlarında gözlerde bildirilen katarakt (4, 9, 26, 42), kaz embriyolarında tespit edilememiştir.

Şekil-1, 2 ve 3'ün incelenmesinden de anlaşılacağı üzere, inokülasyonun 6-7. günlerinde enfekte embriyoların ölçüm ve tartım sonuçlarının, kontrol grubu embriyolarına göre artış gösterdiği saptanmıştır. Ancak, belirlenen bu farklılık muhtemelen aynı günlerde enfekte embriyolarda saptanan subkutan ödem ve kanamaların oldukça şiddetli olması ile açıklanabilir.

Makroskopik olarak bildircin, tavuk ve hindi embriyolarında (3, 26, 42), sırası ile inokülasyonun 6, 8 ve 8-9. gününden itibaren enfekte embriyolardaki gelişimin yavaşlamaya başladığı ve embriyolarda küçükleme ile kas distrofilerin şekillendiği, inokülasyonun sonlarına doğru ise deneme grupları ile kontroller arasında oldukça belirgin bir gelişme geriliğinin ortaya çıktığı ifade edilmiştir. Bu çalışmada da kaz embriyolarında gelişme geriliği ilk defa inokülasyonun 8-9. günlerinden itibaren belirlenmiştir.

Çalışmamızda, inokülasyonun 10-11. günlerinde başlayan ayak ve bacaklarda çarpıklık ile parmaklardaki kıvrılmaların inokülasyonun 16. gününe kadar devam ettiği görülmüştür. Hindi ve tavuk embriyolarında da benzeri bulguların varlığından söz edilmiş (3, 7, 13, 42), ancak bildircin embriyolarında bu lezyonların şekillenmediği bildirilmiştir (26). Bu da, deneysel AE enfeksiyonlarında, bildircin embriyolarından farklı olarak, hastalığa karşı duyarlılıkta kaz, hindi ve tavuk embriyolarının daha hassas olduğu görüşünü akla getirmiştir.

Yine tavuk, hindi ve bildircin embriyolarında (3, 7, 14, 15, 26, 35, 36) makroskopik olarak bildirilen felç tablosu, çalışmamızda inokülasyonun 4. gününden itibaren başlayıp, inkübasyonun sonuna kadar devam ettiği gözlemlenmiştir.

Tavuk, hindi ve bildircin embriyolarında (7, 14, 15, 26) MSS'de, bazı iç organlarda ve iskelet kaslarında mikroskopik olarak bildirilen bulgular, bu çalışmada kaz embriyolarında da gözlemlenmiştir.

Mikroskopik olarak MSS'de, beyin ve beyincikte belirlenen ödem, vasküler proliferasyon, nöron dejenerasyonu ve nekroz ile glia infiltrasyonu tavuk, hindi ve bildircin embriyolarında da bildirilmiştir (7, 12, 14, 15, 26, 34, 37). Ayrıca,

beyincikte Purkinje hücrelerinde, inokülasyonun 6-7. günlerinden itibaren görülmeye başlanan dejenerasyon ve nekrozlar, tavuk ve hindi embriyolarında da (14, 42) bildirilmiş olup, bildircin embriyolarında varlığından söz edilmemiştir (26).

Bu çalışmada medulla spinaliste ilk olarak inokülasyonun 4. 5 ve 6. günlerinden itibaren sırası ile servikal, sakral ve thorakal bölgede ödem, nöyon dejenerasyonu ve nekrozu saptanmış olup, benzeri bulgular tavuk, hindi ve bildircin embriyoları ile civcivler üzerinde yapılan çalışmalarda da gözlenmiştir (10, 14, 26, 31). Tüm bölge spinal ganglionlarında 15. inkübasyon gününden itibaren bazı nöyonlarda dejeneratif değişimler belirlenmiştir. Tavuk embriyolarında yapılan bir çalışmada (30), 15. güne kadar spinal ganglionlarda gözlenen dejeneratif değişimlerin fizyolojik olarak değerlendirilmesi gerektiği bildirilmiştir. Bu da çalışmamızda, spinal ganglionlarda saptanan bu değişimlerin AE'ye bağlı olarak şekillenen bir lezyon olduğu kanaatini desteklemiş olup, bildircin embriyolarında da 15. inkübasyon gününden itibaren benzeri bulguların varlığından söz edilmiştir (26).

Hastalıkta, genç piliçlerde çeşitli iç organlarda lenfosit infiltrasyonlarının gözleendiği belirtilmiş (5, 10, 13, 16, 28, 29, 33, 34), söz konusu bu infiltrasyonların ise MSS'de şekillenen lezyonlara göre daha hafif seyrettiği kaydedilmiştir (31, 36). Bu çalışmada ise genç piliçlerdekinin aksine lenfosit hücre infiltrasyonları gözlenmemiş olup, tavuk, hindi ve bildircin embriyolarında yapılan çalışmalarda da (3, 7, 14, 15, 22, 26, 42) hastalığın teşhisinde patognomonik öneme sahip olduğu bildirilen bu hücre infiltrasyonlarından söz edilmemiştir. Gerek tavuk, hindi ve bildircin embriyolarında ve gerekse bu çalışmada kaz embriyolarında sözü edilen hücre

infiltrasyonlarının şekillenmemesi, humoral bağışıklık sisteminin gelişimini tamamlamamış olması, diğer bir ifade ile lenfositlerin bursa Fabrisius'daki gelişim aşamalarını tamamlamamış olmaları ile açıklanabilir (41). Ancak 18. kuluçka gününde kalp kasında gözlenen fokal lenfoblastik hücre infiltrasyonunun, normal piliçlerde de gözlenen ve hematopoietik merkezler olarak adlandırılan bölgeler olduğu ifade edilmiştir (29).

Çoğu araştırmacı tarafından (15, 26, 42) iskelet kaslarında bildirilen mikroskobik lezyonlar, çalışmamızda özellikle but bölgesi kaslarında gözlenmiştir.

Bakteriyolojik olarak yapılan ekimlerde herhangi bir etkenin üretilmemiş olması bakteriyel kontaminasyon olasılığını ortadan kaldırmıştır.

Bu çalışmada kaz embriyolarında gözlenen bulgular ile tavuk embriyolarında patogeneze yönelik olarak yapılan immunofluoresan çalışmalar (3, 21) birlikte değerlendirildiğinde, medulla spinalis, spinal ganglionlar, beyin ve beyincikte belirlenen bulgular ile iskelet kaslarında gözlenen lezyonları destekler nitelikte bulunmuştur.

Sonuç olarak, bu çalışma ile AEV'nin yumurtaya adapte Van Roekel suşunun deneysel olarak kaz embriyolarında hastalığa özgü patomorfolojik değişimlere yol açtığı ve embriyonal gelişimi etkilediği ortaya konmuştur. Ancak kaz embriyolarında yapılan inokülasyonlarda, söz konusu patolojik değişimlerin, virusun saha suşları için de geçerli olup olmayacağı bilinmediğinden, bu konuda saha suşlarına yönelik çalışmalara ve ayrıca kaz embriyolarında patogeneze yönelik araştırmalara ihtiyaç olduğu kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Arda, M., Minbay, A., Aydın, N. ve ark.: Avian Ensefalomyelitis. Kanatlı Hayvan Hastalıkları. Medisan Yayınevi, Ankara. 1994; 140-144.
2. Babila, A., Ası, Y., Akçadağ, B. ve ark.: İstanbul ve Trakya Bölgesi Kümes Hayvanlarında Inf. Bronchitis (IB), Inf. Laryngotracheitis (ILT), Bursal Disease (IBD), Egg Drop Sendrom (EDS-76), Avian Encephalomyelitis (AE) ve Adenovirus Enfeksiyonlarının Epizootiyolojik Araştırılması ve İzolasyon Çalışmaları. Pendik Hay. Hast. Mer. Arşt. Enst. Derg. 1988; 19, 66-77.
3. Braune, M.O. and Gentry, R.F.: Avian Encephalomyelitis Virus. I. Pathogenesis in Chickens. Avian Dis. 1971; 15, 638-647.
4. Bridges, C.H. and Flowers, A.I.: Iridocyclitis and Cataracts Associated with an Encephalomyelitis in Chickens. J.A.W.M.A. 1958; 15, 79-84.
5. Butterfield, W.K., Helmboldt, C.F. and Luginbuhl, R.E.: Studies on Avian Encephalomyelitis. IV. Early Incidence and Longevity of Histopathologic Lesions in Chickens. Avian Dis. 1968; 13, 53-57.
6. Calnek, B.W., Taylor, P.J. and Sevoian, M.: Studies on Avian Encephalomyelitis. VI. Epizootiology. Avian Dis. 1960-2; 4, 325-347.
7. Deshmukh, D.R., Hohlstein, W.M., McDowell, J.R., et al.: Prevalence of Avian Encephalomyelitis in Turkey Breeder Flocks. Am. J. Vet. Res. 1971; 32, 1263-1267.

8. Fenner, F.J., Gibbs, E.P.J., Murphy, F.A., et al.: Picornaviridae. Veterinary Virology. Second Ed., Acad. Press. Inc. Newyork. 1993; 419-423,
9. Girgin, H.: Yurdumuzda Avian Encephalomyelitis Olayları ve Göz Bulguları. Etlik Vet. Bakt. Enst. Derg. 1971; 3, 1-26.
10. Hazıroğlu, R., Alçıgır, G. ve Karademir, N.: Piliçlerde Avian Encephalomyelitis. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg. 1990; 37, 207-213.
11. Hill, R.W. and Raymond, R.G.: Apparent Natural Infection of Coturnix Quail Hens with the Virus of Avian Encephalomyelitis Case Report. Avian Dis. 1962; 6, 226-227.
12. Hishida, N., Odagiri, Y., Kotani, T., et al.: Morphological Changes of Neurons in Experimental Avian Encephalomyelitis. Jap. J. Vet. Sci.1986; 48, 169-172.
13. Hohlstein, W.M., Deshmukh, D.R., Larsen, C.T., et al.: An Epiornithic of Avian Encephalomyelitis in Turkey in Minnesota. . Am. J. Vet. Res. 1970; 31, 2233-2242.
14. Itakura, C. and Goto, M.: Avian Encephalomyelitis in Embryos and Abnormal Chicks on the Day of Hatching. Neurohistopathological Observations. Jap. J. Vet. Sci.1975; 37, 21-28.
15. Jungherr, E., Sumner, F. and Luginbuhl, R.E.: Pathology of Egg-Adapted Avian Encephalomyelitis. Science. 1956; 124, 80-81.
16. Luginbuhl, R.E., Helmboldt, C.F. and Calnek, B.W.: Avian Encephalomyelitis (Epidemic Tremor). Diseases of Poultry. Eighth Ed., Iowa State Univ. Press. Ames Iowa, 1984; 471-481.
17. Luna, L.G.: Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology. McGraw. Hill Book Company. New York. 1970.
18. Mancini, L.O. and Yates, V.J.: Cultivation of Avian Encephalomyelitis Virus in Vitro. I. In Chick Embryo Neuroglial Cell Culture. Avian Dis. 1967; 11, 672-679.
19. Mancini, L.O. and Yates, V.J.: Cultivation of Avian Encephalomyelitis Virus in Vitro. II. In Chick Embryo Fibroblastic Cell Culture. Avian Dis. 1968; 12, 278-284
20. Mathey, W.J.Jr.: Avian Encephalomyelitis in Pheasants. Cornell. Vet. 1955; 45, 89-93.
21. Miyamae, T.: Comparative Pathogenicity of Avian Encephalomyelitis Viruses in Chicken Embryos. Am. J. Vet. Res. 1975; 36, 903-907.
22. Miyamae, T.: Immunofluorescent Study on Egg-Adapted Avian Encephalomyelitis Viruses Infection in Chickens. Am. J. Vet. Res. 1977; 38, 2009-2012.
23. Mohanty, G.C. and West, J.L.: Pathogenesis and Histologic Features of Dorsal Root Ganglia Lesions in Chicks. Avian Dis. 1972; 16, 31-41.
24. Mohanty, G.C. and West, J.L.: Pathogenesis and Pathologic Features of Avian Encephalomyelitis in Chicks. Am. J. Vet. Res. 1968; 29, 2387-2400.
25. Özcan, C.: Elazığ, Diyarbakır, Malatya İlleri ve Çevrelerinde Avian Encephalomyelitis Üzerine Serolojik Araştırma. Pendik Vet. Mikrobiyol. Derg. 1994; 25, 55-61.
26. Özer, H., Eröksüz, H., Eröksüz, Y. ve ark.: Avian Encephalomyelitis Virus ile Enfekte Edilmiş Bildircin (Coturnix coturnix Japonica) Embriyolarında Patolojik Bulgular. Tr. J. Vet. Anim. Sci. 1996; 20, 95-102.
27. Özer, H., Metin, N., Eröksüz, H. ve ark. : Avian Encephalomyelitis Virus ile Enfekte Edilmiş Bir Günlük Bildircin (Coturnix coturnix Japonica) Palazlarında Patolojik Bulgular. Yutav. Uluslararası Tavukçuluk Fuarı ve Konferansı.1995; 599-606.
28. Randall, C.J.: A Colour Atlas of Diseases and Disorders of the Domestic Fowl and Turkey. Wolfe Publishing Ltd. London. 1991.
29. Riddell, C.: Avian Histopathology. The American Ass. of Avian Pathologist. First Ed., Allen Press Inc., Lawrence, Kansas. 1987.
30. Romanoff, A.L.: The Avian Embryo. Structure and Functional Development. First Ed., McMillan Company. New York. 1960; 339-344.
31. Sağlam, Y.S. ve Erer, H.: Cıvıclerde Deneysel Avian Encephalomyelitis Hastalığında Klinik ve Histopatolojik Bulguların İncelenmesi. Etlik Vet. Mik. Derg. 1997; 9, 31-46.
32. Snedecor, G.W. and Cochran, W.G.: Statistical Methods. Seventh Ed., Iowa State Univ. Press. Ames Iowa. 1980.
33. Sönmez, G., Çarlı, K.T. ve Ertürk, E.: Bursa Yöresinde Avian Encephalomyelitis Salgını. U. Ü. Vet. Fak. Derg. 1-2-3 (1989), 1-2-3 (1990); 8-9, 7-16.
34. Springer, W.T. and Schmittle, S.C.: Avian Encephalomyelitis: A Chronological Study of the Histopathogenesis in Selected Tissues. Avian Dis. 1968; 12, 229-239.
35. Sumner, F.W., Jungherr, E.L. and Luginbuhl, R.E.: Studies on Avian Encephalomyelitis. I. Egg Adaptation of the Virus. Am. J. Vet. Res. 1957; 18, 717-719.
36. Sumner, F.W., Luginbuhl, R.E. and Jungherr, E.L.: Studies on Avian Encephalomyelitis. II. Flock Survey for Embryo Susceptibility to the Virus. Am. J. Vet. Res. 1957; 15, 720-723.
37. Taylor, L.W., Lowry, D.C. and Raggi, L.G.: Effect of an Outbreak of Avian Encephalomyelitis (Epidemic Tremor) in a Breeding Flock. Poultry Sci. 1955; 34, 1036-1045.
38. Van der Heide, L.: The Fluorescent Antibody Technique in the Diagnosis of Avian Encephalomyelitis. Tech. Bull. Univ. Maine, 1970; 44, 1-79.

39. Van Roekel, H.: Avian Encephalomyelitis (Epidemic Tremor). Diseases of Poultry. Fifth Ed.; Iowa State Univ. Press. Ames Iowa, 1965; 771-783.
40. Van Steenis, G.: Survey of Various Avian Species for Neutralizing Antibody and Susceptibility to Avian Encephalomyelitis Virus. Res. Vet. Sci. 1971; 12, 308-311.
41. Veromaa, T.: Function of Bursa Fabricius. University of Turku Press. Finland. 1988.
42. Yılmaz, F. ve Özer, H.: Hindi Embriyosunda Deneysel Avian Encephalomyelitis (AE) Üzerinde Morfolojik İncelemeler. Tr. J. Vet. and Anim. Sci. 1999; 23, 205-213.