Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Dergisi, Enstitünün bilimsel yayın organı olup, yılda bir kez yayınlanır. Derginin kısaltılmış adı Bornova Vet. Kont. Araşt. Enst. Derg.'dir.

The Journal of Bornova Veterinary Control and Research Institute is the scientific publication of the institute, which is published once a year. The designation of the journal is J.of BornovaVet.Cont.Res.Inst.

Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Adına Sahibi

Necdet AKKOCA
Enstitü Müdürü

Yayın Kurulu/Editorial Board
Dr. Öznur YAZICIOĞLU
Dr. Özhan TÜRKYILMAZ
Uzm.Vet. Hek. Necla TÜRK

Bu sayıda görev alan Yayın Danışmanları (Board of Scientific Reviewers of this issue)

Prof. Dr. Yılmaz AKÇA
Dr. Ayşen BEYAZIT
Prof. Dr. Haşmet ÇAĞIRGAN
Prof. Dr. Tayfun ÇARLI
Dr. Fethiye ÇÖVEN
Prof. Dr. Bilal DİK
Prof. Dr. Ahmet DOĞANAY
Prof. Dr. Osman ERGANİŞ
Dr. Seza ESKİİZMİRLİLER
Dr. Olcay Türe GÖKSU
Dr.Şerife İNÇOĞLU
Dr. Gülnur KALAYCI
Prof. Dr. Zafer KARAER
Dr. İbrahim ÖZ
Prof. Dr. Edip ÖZER
Dr. Gülçin ÖZTÜRK
Prof. Dr. Sibel YAVRU

*İsimler soyadına göre alfabetik sırayla yazılmıştır.

Yazışma Adresi (Correspondance Address)

Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü
35010 Bornova / İZMİR
Tel: 0 (232) 388 00 10
Fax: 0 (232) 388 50 52
E-posta: bornova@vet.gov.tr
Web site: http://bornova.vet.gov.tr
Yayın Türü: Yaygın süreli ve hakemli

Bu dergi 1999 yılına kadar "Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Dergisi" adı ile yayımlanmıştır.

This journal was published with the name of "The Journal of Veterinary Control and Research Institute" until 1999.

BORNOVA VETERİNER KONTROL VE ARAŞTIRMA ENSTİTÜSÜ DERGİSİ

The Journal of Bornova Veterinary Control and Research Institute

ISSN 1300-8307

Cilt/Volume**: 29 Sayı**/Number: **43 Yıl**/Year: **2007**

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

© Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitü Dergisi
Tüm hakları saklıdır. Bu derginin tamamı ya da Dergide yer alan bilimsel çalışmaların bir kısmı ya da tamamı 5846 sayılı yasanın hükümlerine göre Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nün yazılı izni olmaksızın elektronik, mekanik, fotokopi ya da herhangi bir kayıt sistemi ile çoğaltılamaz, yayımlanamaz.

Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri
87 Sok. No. 4 / A Bornova
☎ (0.232) 343 64 54 ✉ metabasim@gmail.com
İzmir, 2007

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

ÖNSÖZ

Dergimiz, bu sayısından itibaren yılda bir kez yayımlanan ulusal bilimsel hakemli bir dergi olarak yayın hayatını sürdürecektir. Araştırmacılar, dergimize verdikleri yazıların güncelliğini yitirmeden yayımlanmasını ve daha geniş bir okuyucu kitlesine ulaşmasını arzu etmektedirler. Bu istek onlar için en doğal bir hak olup, zaten olması gereken bir durumdur. Bunu, akademisyenlerin yazılarını yayınlatmak için seçtikleri dergilerde aradıkları özelliklerin belki de en başında sayabiliriz. Ancak Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Dergisi'nin bundan böyle yılda bir kez yayımlanmasının altında yatan temel gerçek YÖK yasası ile başlayan bu güne kadar süregelen Veteriner Hekimlik Uzmanlık müessesesinin yokluğudur. Zaman zaman yayımlanan yönetmeliklerle eksiklik giderilmeye çalışılsa da çıkarılan mevzuatlar mahkeme kararları ile iptal edilmiştir. Veteriner Hekimlikte Uzmanlık mevzuatının uygulanmasına uzun bir süre ara verilmesinin yanısıra enstitülere araştırmacı istihdamının da yetersiz oluşu ve enstitülerde araştırmacı olmanın sosyal cazibesinin olmayışı ortaya konan araştırma sayısını ve kalitesini azaltmıştır.

Avrupa Birliği'ne giriş sürecinde; enstitümüzün, alt yapısındaki gelişimlere paralel olarak hayvan hastalık ve gıda güvenliğine ilişkin kontrollere bağlı iş yükü de artmış ve en önemlisi TS EN ISO/IEC 17025 standardı çerçevesinde akreditasyon gereği bünyesindeki Teşhis ve Analiz Bölüm/ Laboratuvarlarının katılmış olduğu uluslararası yeterlilik test sonuçları ile de kanıtlandığı gibi müşteri gözünde muayene ve analiz sonuçlarının doğruluk ve güvenirliliğinin sağlanması, özel talep edilen muayeneler konusunda da ciddi bir artış sağlamıştır. Diğer yandan enstitümüzün yeterli sayıda ve kalifiye uzman/ araştırmacı açığının yanısıra, iş yükündeki artış yeterli sayı ve kalitede ve uygulamaya yönelik araştırma yapma imkanını ortadan kaldırmaktadır.

Her zaman ülkesi ve toplumuna karşı sorumluluk bilinci içinde hareket eden tüm Enstitü personeline, Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Dergisinin bu sayısında yayınlarıyla dergimizin bilimsel düzeyini yükselten bilim adamlarına ve araştırmacılarımıza, makaleleri titizlikle inceleyip yayın sahiplerine yayınlarıyla ilgili bilimsel katkı sağlayan Yayın Danışmanlarımıza ve Enstitümüz Araştırma ve Yayın Komitesi'nin değerli üyelerine teşekkür ederim.

Necdet AKKOCA
Müdür

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

İÇİNDEKİLER

CONTENTS

Aydın yöresinde bovine Rotavirus enfeksiyonunun seroprevalansı ve spesifik antikorların yaş gruplarına göre dağılımı
Seroprevalence of bovine Rotavirus infection in Aydın province and distribution of specific antibodies according to age groups
M. Tolga TAN, Sibel GÜR, Yakup YILDIRIM, İrfan ÖZGÜNLÜK 1

Türkiye'de izole edilen infeksiyöz bursal hastalığı saha viruslarının moleküler karakterizasyonu
Molecular characterization of the infectious bursal disease field viruses isolated in Turkey
Olcay TÜRE GÖKSU, Hanifi ERTURUN, Hasan Hüseyin PALA 5

İzmir yöresi keçilerinde *Sarcocystis* türlerinin yaygınlığı
The prevalence of caprine *Sarcocystis* species in Izmir province
Ayşen BEYAZIT, Öznur YAZICIOĞLU, Zafer KARAER 17

Adana yöresinde evcil güvercinlerde *Haemoproteus columbae*'nin yaygınlığı
The prevalence of *Haemoproteus columbae* in domestic pigeons in the province of Adana
İbrahim ÖZ, Nevin TURUT 25

Case Report: Clinical observation in two dogs with atypical babesiosis
Olgu Sunumu: Atipik babesiosis'li iki köpekte klinik görünüm
Bülent ULUTAŞ, Serdar PAŞA, Tülin KARAGENÇ, Göksel BAYRAMLI 31

***Anisakis*'in gıda güvenliği ve halk sağlığı yönünden önemi**
Importance of *Anisakis* for food safe and public health
Özen KURŞUN, İrfan EROL 35

Koi Herpesvirus hastalığı
Koi Herpesvirus Disease
Buket ÖZKAN ÖZYER 43

Eperythrozoonosis
Eperythrozoonosis
Akın KIRBAŞ, Haydar ÖZDEMİR 49

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

Bornova Vet. Kont. Araşt.
Enst. Derg., 29 (43): 1-4, 2007

AYDIN YÖRESİNDE BOVİNE ROTAVİRUSUN ENFEKSİYONUNUN SEROPREVALANSI VE SPESİFİK ANTİKORLARIN YAŞ GRUPLARINA GÖRE DAĞILIMI

SEROPREVALENCE OF BOVINE ROTAVIRUS INFECTION IN AYDIN PROVINCE AND DISTRIBUTION OF SPECIFIC ANTIBODIES ACCORDING TO AGE GROUPS

M. Tolga TAN[1] Sibel GÜR[2] Yakup YILDIRIM[3] İrfan ÖZGÜNLÜK[4]

Geliş Tarihi (Received): 03.01.2005 Kabul Tarihi (Accepted): 29.04.2005

ÖZET

Aydın bölgesinde 4 farklı sığırcılık işletmesinden, yaşları 1 gün ile 9 yaş arasında olan toplam 288 hayvandan kan serumu toplandı. Bovine Rotavirus (BRV) enfeksiyonunu hatırlatan klinik bulgular olmamasına karşın, işletmelere göre % 34.8 ile % 54.1 arasında değişen bir dağılım gösteren ve ortalama olarak % 43.1 olarak belirlenen seropozitiflik oranı saptanmıştır. Yaş gruplarına göre BRV spesifik antikor dağılımı incelendiğinde 1gün-2ay yaş grubunun en az seropozitifliğe (% 17.9) sahip olduğu, en yüksek seropozitifliğin ise 7 ay ve üzerindeki yaş grubunda bulunan hayvanlarda (% 47.2) olduğu saptanmıştır. Antikor titre değerlerinin ise 1/5 ile 1/320 sulandırma noktaları arasında değiştiği ancak serumların büyük bir çoğunluğunun 1/20 ile 1/40 sulandırma noktaları arasında bir titreye sahip olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Aydın, BRV, nötralizasyon testi, seroprevalans.

SUMMARY

Total of 288 blood samples were collected from 4 different cattle farms in Aydın Province. Ages of sampled animals were among 1 day and 9 years old. Against there was no clinical findings remind BRV, seropositivity rates were found between 34.8 % and 54.1 % according to the herds and average ratio was found 43 %. BRV spesific antibody distribution according to the age; the group that under 2 month old has lowest seropositivity (17.9 %), but highest values were belong to 7 month old and olders (47.2 %). Antibody titre values changed at 1/5 and 1/320 interval.

Keywords: Aydın, BRV, neutralization test, seroprevalence.

GİRİŞ

Reoviridae ailesinde yer alan Rotaviruslar, insan ve hayvanların yenidoğanlarındaki en önemli ishal etkenleri arasındadır (10, 13). İkosahedral simetrili olan virusda genom çift iplikcikli RNA olup, 11 segmentlidir. Viral RNA, iç ve dış kapsit tarafından çevrelenmektedir. İzole edilen Rotavirusların antijenik ve genomik analizleri sonucunda 6 grup (A, B, C, D, E, F) belirlenmiştir (3, 12). Virusun konakçı spektrumunda evcil ruminantlar, monogastrik hayvanlar ve insan vardır. Bovine Rotaviruslar (BRV) erişkinlerde genellikle subklinik enfeksiyon meydana getirmekle birlikte farklı türlerde yeni doğanlarda akut enterite neden olurlar. Klinik tablo sarı renkli ishal ve anoreksiye bağlı olarak dehidrasyon ve kilo kaybı ile karakterizedir. Komplike olmadığı durumlarda bağırsaklarda büyük lezyonlar meydana gelmez ve şekillenen ishal tedavi gerektirmeden iyileşme gösterirken, *E.coli, Salmonella, Cryptosporidium* veya *Clostridium* gibi etkenlerle komplike olduğunda bağırsaklar konjesyone hatta hemorajiktir, bunlara bağlı olarak da mortalite artabilmektedir (2, 10).

Buzağılar, postnatal dönemin 8. haftasına kadar hastalığa yüksek duyarlılık göstermektedirler (9, 13). Aktif immunitenin gelişmesiyle duyarlılık azalır. Bovine Rotaviruslar bağırsakta villöz atrofi ve apikal villöz epitel hücrelerinde malabsorbsiyon bozukluklarına bağlı diyareye neden olurlar (2, 10).

Yetişkin sığırlar ve danalar sağlıklı görünmelerine rağmen virus saçabilirler. Kanda BRV antikoru bulunması re-enfeksiyonlara karşı korunma

[1] Yrd.Doç.Dr., Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji A.D., Aydın/TÜRKİYE.
[2] Yrd.Doç.Dr., Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji A. D., Afyon/TÜRKİYE.
[3] Dr., Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji A. D., Kars/TÜRKİYE.
[3] Dr., Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji A. D., Şanlıurfa/TÜRKİYE.

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

sağlayamaz (15, 16), ancak yenidoğanlarda kolostrum veya sütle bağırsak lumenine alınan maternal antikorlar BRV enfeksiyonu için pasif korunma meydana getirir (4, 15).

Postnatal dönemde sütteki antikor titresi 3-7 gün içinde hızla azalmakta, buna bağlı olarak buzağılarda enfeksiyon riski hızla artmaktadır (14). Bu yüzden gebe ineklerin aşılanması ile sütteki antikor sekresyonunun miktarını ve süresini uzatarak enfeksiyonun insidensi azaltılabilmektedir (11).

Bu çalışmada, yörede enfeksiyonun seroprevalansının saptanması ile farklı yaşlardaki sığırlarda BRV spesifik antikor dağılımının tespiti, dolayısıyla hangi yaş gruplarının yoğun olarak enfeksiyona maruz kaldığı konusunda bilgi edinmek amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Serum Örnekleri: Aydın bölgesinde, kapalı süt sığırcılığı yapılan 4 farklı işletmedeki, yaşları 1 günlük ile 9 yaş arasında değişen sığırlardan toplam 288 kan serumu elde edildi (Tablo 1). Örneklenen işletmelerdeki hayvanlara daha önce koruyucu rotavirus aşılaması yapılmadığı işletme kayıtları dikkate alınarak tespit edildi.

Kaolinli tüpler içerisindeki kan örneklerinden ayrılan serumlar, 56°C'de 30 dk tutularak inaktive edildikten sonra testte kullanılıncaya kadar -20°C'de saklandı.

Hücre Kültürü: Çalışmada bovine rotavirusun üretilmesi, titresinin belirlenmesi ve serum nötralizasyon testinin yapılmasında MDBK (Madin Darby Bovine Kidney) hücre kültürü, vasat olarak da DMEM (Dulbecco's Minimal Essential Medium) ve %10 FDS (Fötal Dana Serumu) kullanıldı.

Virus: Çalışmada BRV'un Northern Ireland 447/75 suşu kullanıdı. Virusun titresi Kaerber metoduna göre hesaplandı ($DKID_{50}$:$10^{-3,5}$/0,1ml).

Metot

Mikronötralizasyon Testi: Elde edilen kan serumlarında BRV spesifik antikor varlığının tespiti amacıyla Frey ve Liess'in (7) bildirdiği yönteme uygun olarak mikronötralizasyon testi yapıldı.

Bu amaçla, serum örnekleri vasatla 5 kat sulandırılarak (1/5) her bir serum örneği için mikropleytin iki gözüne 50µl konuldu, üzerine eşit hacimde titresine göre sulandırılan test virusu ($DKID_{50}$/0,05ml) ilave edildi.

CO_2'li etüvde, 37 ^{o}C'de, 1 saat inkubasyonu takiben pleytin tüm gözlerine ml'de 300.000 hücre olacak şekilde sulandırılan MDBK hücre süspansiyonu ilave edildi. Pleytler % 5 CO_2'li etüvde 37°C'de inkube edildi ve doku kültürü mikroskobunda değerlendirildi.

Serum Nötralizasyon (SN_{50}) Testi: Mikronötralizasyon testi sonucunda antikor varlığı belirlenen serum örneklerinin Logaritmik sulandırmaları hazırlanarak (1/5, 1/10….1/320) nötralizasyon testi uygulandı.

BULGULAR

Mikronötralizasyon Testi Sonuçları:

Dört farklı işletmeden elde edilen 288 kan serumundan 124'ünün (% 43.1) BRV antikoru taşıdığı belirlendi.

BRV spesifik antikor taşıyan hayvanların oranının işletmelere göre % 34.8 ve % 54.1 arasında değiştiği saptandı (Tablo 1).

Farklı yaş gruplarındaki hayvanların seropozitiflik oranları Tablo 2'de sunulmuştur. Buna göre en düşük seropozitiflik oranı 1 gün-2 ay arası grupta olup % 17.9 olarak tespit edildi. Bu oran 3-6 ay arası grupta % 39.6, 7 ay ve daha yaşlı hayvan-ların bulunduğu grupta ise % 47.2 olarak bulunup, kontrol edilen hayvanların genelinde % 43.1 sero-pozitiflik saptandı.

Tablo 1. İşletmelere göre BRV Ab (+) numunelerin dağılım ve oranları.

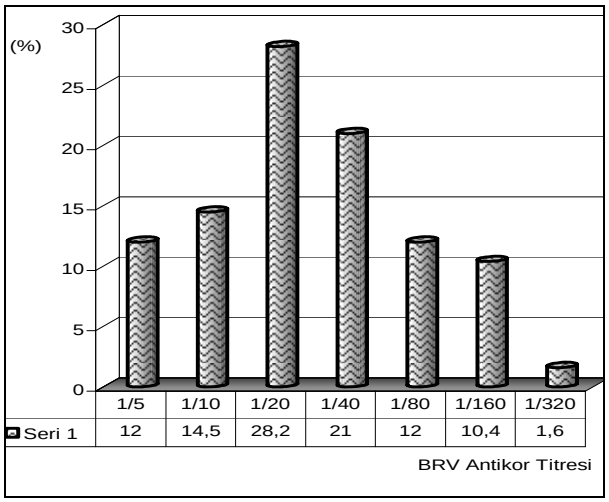
İşletme	Numune	1/5	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	Ab(+)	%
I	41	4	6	4	3	2	-	-	19	46.3
II	61	6	2	11	8	4	2	-	33	54.1
III	69	1	4	9	4	4	2	-	24	34.8
IV	117	4	6	11	11	5	9	2	48	41.0
Toplam	288	15	18	35	26	15	13	2	124	43.1

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

Serum Nötralizasyon$_{50}$ (SN_{50}) Testi Sonuçları:

BRV antikorları yönünden seropozitif olduğu saptanan 124 serum numunesindeki antikor düzeyleri (SN_{50}) dağılımı 1/5 ile 1/320 sulandırma noktaları arasında değişmekle birlikte, kontrol edilen işletmelerin tamamında bu değerlerin 1/20-1/40 aralığında yoğunlaştığı saptandı (Tablo 1, Grafik 1). Bunun yanında, BRV antikorları yönünden pozitif olarak bulunan 2 aylıktan küçük toplam 5 hayvanın hepsinde antikor titrelerinin 1/80'den düşük olduğu belirlendi. İlk 6 aylık grup ele alındığında, seropozitif olduğu saptanan toplam 24 hayvanın sadece 2 tanesinde (% 8.3) antikor titreleri 1/80'in üzerinde saptandı. Seropozitif bulunan ileri yaştaki (7 ay ve üstü) 100 hayvanın ise 18 tanesinde (% 18) 1/80 ve üzerinde antikor titreleri saptandı.

Grafik 1. Bovine rotavirus spesifik antikor titre dağılımı



TARTIŞMA

Sığırlarda rotavirus enfeksiyonu tüm dünyada geniş bir yayılıma sahiptir (8, 10). Türkiye'de de enfeksiyonun varlığı daha önce yapılan serolojik ve virolojik çalışmalarda ortaya konmuştur (1, 5, 6, 17).

Alkan ve ark. (1), 8 farklı işletmeden örnekledikleri 585 erişkin sığıra ait gaita örneğini BRV antijenleri yönünden ELISA ile kontrol etmiş, antijen tespit edilmemesine rağmen işletmelere göre % 14 ile % 78 arasında değişen (ortalama % 43) sero-pozitiflik tespit etmişlerdir. Yazıcı (17) çalışmasında yenidoğanlarda enfeksiyonun seroprevalansını % 17 olarak saptamıştır.

Bu araştırmada Aydın yöresindeki 4 sığırcılık işletmesinden toplanan 288 kan serumu BRV antikorları yönünden kontrol edilmiş, ortalama % 43.1 seropozitiflik saptanmıştır. İşletmelerde daha önce rotavirus enfeksiyonuna karşı aşılama yapılmamış olması nedeniyle, saptanan seropozitiflik değerlerinin erişkin hayvanlarda doğal enfeksiyonlara, genç hayvanlarda ise doğal enfeksiyonlara yada maternal antikorlara bağlı olduğu şeklinde yorumlanmıştır. İşletmeler arasında % 34.8 ile % 54.1 arasında değişen seropozitiflik tespit edilmiştir (Tablo 1). Bu değerler Alkan ve ark. (1)'nın çalışma sonuçlarına oldukça yakınlık göstermekle birlikte, diğer araştırıcıların bildirdiği oranların üzerindedir. Bu durum, araştırmada örneklenen işletmelerin kapalı işletmeler olup, hayvanların birbirine çok yakın olarak bakım ve beslenmesi ile bu işletmelerde BRV'ye karşı korunma tedbirleri uygulanmamasına bağlanmıştır.

Tablo 2. Yaş gruplarına göre seropozitifliğin dağılımı

Yaşlar	Hayvan sayısı	Ab(+) sayısı	Ab(+) oranı (%)
1 gün-2 ay	28	5	17.9
3-6 aylık	48	19	39.6
7 ay ve üstü	212	100	47.2
Toplam	288	124	43.1

Tablo 2 incelendiğinde, en düşük seropozitifliğin % 17.9 ile 1 gün-2 ay yaş grubundaki hayvanlarda tespit edildiği görülmektedir. Bunu % 39.6 seropozitiflik ile 3-6 ay yaş grubundaki hayvanlar izlemektedir. 7 aylık ve üzerindeki yaş grubundaki hayvanlarda ise % 47.2 seropozitiflik saptanmıştır.

1 gün-2 ay yaş grubundaki hayvanlarda seropozitiflik oranının % 17.9 olarak bulunduğu dikkate alındığında, bu oranın Yazıcı (17)'nın yenidoğanlarda yaptığı çalışmada bulduğu değere (% 17) çok yakın olduğu gözlenmektedir.

Erişkin hayvanlarda tespit edilen yüksek seropozitifliğe rağmen, yenidoğan hayvanlardaki düşük seropozitiflik oranı ve düşük antikor titreleri, kolostrum yoluyla anneden yavruya nakledilen antikorların çok yetersiz olduğunun ve uzun süre korunma sağlayamadığının bir göstergesi olmaktadır. Snodgrass ve ark. (14) tarafından da kolostrumdaki BRV antikorları titresinin 3-7 gün içerisinde hızla azaldığı ve buna bağlı olarak da buzağılarda enfeksiyon riskinin hızla arttığı bildirilmiştir. Bunun yanında kanda BRV antikoru bulunmasının re-enfeksiyonlara karşı koruma sağlayamadığı ve genç hayvanların enfeksiyona daha duyarlı oldukları (15, 16) gözönüne alındığında, 8 haftalığa kadar olan buzağıların klinik tablo ile seyreden enfeksiyona karşı ne kadar açık oldukları (9, 13) bu çalışma sonuçlarıyla da ortaya konmaktadır.

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

Gerçekten de 3-6 ay yaş grubundaki hayvanlardaki seropozitiflik oranının (% 39.6), 1 gün-2 ay yaş grubundaki hayvanlarda belirlenen seropozitiflik oranına (% 17.9) göre çok yüksek olması, bu dönemde geçirilen akut enfeksiyonlara bağlı bir seropozitiflik artışı olarak değerlendirilmiştir.

İleri dönemlerde rastlanan seropozitiflik oranındaki zayıf artış (3-6 ay: % 39.6, 7 ay ve üstü: % 47.2) 6 aylıktan büyük hayvanların klinik enfeksiyona daha dirençli oldukları da (2, 10, 13) göz önüne alındığında, sürü içersinde geçirilen subklinik enfeksiyonların bir göstergesi olarak değerlendirilmektedir.

Seropozitif numunelerdeki değerlerin 1/20-1/40 aralığında yoğunlaştığı ve özellikle ilk 6 aylık grupta düşük seropozitiflik ile çok düşük orandaki (% 8.3) seropozitif hayvanda antikor titresinin 1/80'in üzerinde olması dikkate alındığında, yine anneden yavruya nakledilen pasif bağışıklığın çok düşük olduğu gözlenmektedir. Ayrıca ileri yaşlardaki hayvanların kan serumlarında saptanan yüksek seropozitiflik oranları ile antikor titreleri, sürü içerisindeki subklinik enfeksiyonların devamlılığına işaret etmektedir.

Sonuç olarak, özellikle enfeksiyona açık seronegatif hayvanlar ile daha duyarlı olan genç hayvanlara karşı hijyen ve aşılama gibi korunma kontrol önlemlerinin uygulanması, işletmelerde hastalığa bağlı ekonomik kayıpların önüne geçilebilmesi açısından önem kazanmaktadır. Özellikle aşılama, hem sürü içersindeki subklinik enfeksiyonların önüne geçerek subklinik enfekte hayvanlardan klinik enfeksiyona duyarlı hayvanlara bulaşmayı önleyebilmesi, hem de sütteki antikor sekresyonunun miktar ve süresini uzatabilmesi (11) nedeniyle önemli bulunmaktadır.

KAYNAKLAR

1. **Alkan, F., Bilge-Dağalp, S., Oğuzoğlu, T. Ç., Yeşilbağ, K.** (1999) *Rotavirus enfeksiyonunun epidemiyolojisinde erişkin sığırların rolü.* A.Ü. Vet. Fak. Derg., 46 (1): 85-92.
2. **Blood, D. C., Radostits, O. M., Handerson, J. A.** (1983) *Veterinary Medicine*, Sixth Edition, Baillere, Tindal, London, UK.
3. **Bridger, J.C.** (1994) *Non-group A rotaviruses* 369-407 In: Kapikian, A.Z. (Ed): Viral infection of the gastrointestinal tract. 2rd edition, Marcel Dekker, New York.
4. **Bridger, J. C., Woode, G. N.** (1975) *Neonatal calf diarrhea: Identification of a reovirus like agent (rotavirus) in feces by immunofluorescence and immuno electron microscopy.* Br. Vet. J., 131:528-535.
5. **Burgu, İ., Akça, Y.,** (1983) *Sığırlarda rotavirus antikorlarının dağılımı üzerine çalışmalar.* A.Ü. Vet. Fak.Derg., 30: 35-44.
6. **Burgu, İ., Akça, Y., Alkan, F., Özkul, A., Karaoğlu, T.,** (1995) *Yenidoğan ishalli buzağılarda Rotavirusların Elektron Mikroskopi (EM), Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) ve Polyacrylamide Gel Electrophoresis (PAGE) tekniklerı ile çabuk teşhisi ve antijenik karakterizasyonu.* A.Ü.Vet. Fak. Derg., 42: 491-498.
7. **Frey, H. R., Liess, B.** (1971) *Vermehrungskinetik und Verwendbarkeit eines stark zytopatogenen VD-MD Virus stammes für diagnostische Untersuchungen mit der Mikrotitermethode.* Zentbl. Vet. Med, 18: 61-71.
8. **Garcia, Sanchez, J., Corral, C., Halaihel, N. G., Simn, M. C., Alonso, J. L., Muzquiz, J. L., Ortega, C. and Girones, O.** (1993) *Survey of rotavirus infection in a dairy herd: comparison between polyacrylamide gel electrophoresis and two commercial tests*. Vet. Mikrobiol., 34: 321-332.
9. **Kohara, J., Tsunemitsu, H.** (2000) *Correlation between maternal serum antibodies and protection against bovine rotavirus diarrhea in calves.* J. Vet. Med. Sci., 62: 219-221.
10. **McNulty, M. S., Logan, E. F.** (1983). *Longitudinal survey of rotavirus infection in calves.* Vet. Rec. 113: 333-335.
11. **Mebus, C. A., White, R. G., Bass, E. B., Twiehaus, M. J.** (1973) *Immunity to neonatal calf diarrhea virus.* J.Am.Vet.Med.Assoc., 163:880-883.
12. **Saif, L. 1.** (1990). *Non-group A rotaviruses* 73-95 In: Saif, L.J. and Theil, K.W. (Eds): Viral diarrhea of man and animals. CRC press, Boca Raton, Fla.
13. **Saif, L. J., Rosen, B. I., Parwani, A**. (1994) *Animal Rotaviruses*. 279-367. In: Kapikian, A.Z. (Ed): Viral infection of the gastrointestinal tract. 2nd ed., Marcel Dekker, New York.
14. **Snodgrass, D. R., Fahey, K. J., Wells, P. W., Campbell, I., Whitelaw, A.** (1980) *Passive immunity in calf rotavirus infections: Maternal vaccination increases and prolongs immunoglobulin G1 antibody secretion in milk.* Infect. Immun., 28: 344-349.
15. **Snodgrass, D.R., Wells, P.W**. (1978) *The immunoprophylaxis of rotavirus infections in labs*. Vet. Rec., 102: 146-148.
16. **Woode, G.N., Jones, J.M., Bridger, J.C.** (1975) *Levels of colostral antibodies against neonatal calf diarrhea virus.* Vet. Rec., 97: 148-149.
17. **Yazıcı, Z.** (1991) *Buzağılarda rotavirus enfeksiyonlarının seroepidemiyolojisi ve ELISA testi ile rotavirus antijenlerinin identifikasyonu*. A. Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara.

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

.

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

Bornova Vet. Kont. Araşt.
Enst. Derg., 29 (43): 5-16, 2007

TÜRKİYE'DE İZOLE EDİLEN İNFEKSİYÖZ BURSAL HASTALIĞI SAHA VİRUSLARININ MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

MOLECULAR CHARACTERIZATION OF THE INFECTIOUS BURSAL DISEASE FIELD VIRUSES ISOLATED IN TURKEY

Olcay TÜRE GÖKSU[1] Hanifi ERTURUN[2] Hasan Hüseyin PALA[2]

Geliş Tarihi (Received): 26.12.2006 Kabul Tarihi (Accepted): 17.08.2007

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, sahadaki infeksiyöz bursal hastalığı virusları (IBDV) arasındaki moleküler polimorfizmi ortaya koymak ve Türkiye'de Amerikan tipte antijenik varyant virusların varlığını araştırmaktı.

Bu amaçla, infeksiyöz bursal hastalığı (IBD) geçirmekte olan veya hastalık şüpheli vakalardan 1990-1994 ve 1999-2003 yılları arasında toplanan bursa Fabricius (BF) örneklerinden izole edilen saha virusları, Amerikan ve Avrupa orijinli serotip 1 grubu klasik ve Amerikan varyant virusları ile karşılaştırmalı olarak reverse transcriptase/polymerase chain reaction (RT/PCR) ve bunu takip eden restriction endonuclease (RE) teknikleri ile incelendi. Test edilen virusların VP2 geninin 394bp'lik bölümü amplifiye edildi ve altı restriksiyon enzimi *(DraI, BstOI, SacI, MboI ,StyI, TaqI)* ile RE profilleri belirlendi.

Referans viruslardan serotip 1 grubu klasik virusları STC, D78, SAL ve varyant IN suşlarına RT/PCR-RE testi uygulandı. Diğer klasik viruslar (F52/70, Cu-1) ve varyant viruslar (MD,Del A, Ev) ile karşılaştırmalar yayınlanmış RE profil bilgileri üzerinden yapıldı.

Her iki döneme ait saha viruslarının RE sonuçlarının genel değerlendirmesinde, sahada 6 farklı RE profilinin olduğu görüldü. Aşılarla benzerlik gösteren iki profil (Profil 2 ve 6) dışındaki diğer 4 profilin (Profil 1, 3, 4 ve 5) Amerikan veya Avrupa orijinli serotip 1 klasik viruslarına veya Amerikan varyant viruslarına benzemedikleri ortaya kondu.

Anahtar Kelimeler: IBDV, RT/PCR-RE, Türkiye

SUMMARY

The purpose of this study was to demonstrate the molecular polymorphisms of the infectious bursal disease viruses (IBDV) in the field and also to investigate the presence of the American type antigenic variant viruses in Turkey. For this purpose, the infectious bursal disease (IBD) field viruses isolated from the bursa Fabricius (BF) samples collected from flocks which experienced or suspected to have the disease during 1990-1994 and 1999-2003 were examined by reverse transcriptase/polymerase chain reaction (RT/PCR) followed by the restriction endonuclease (RE) techniques and the results were compared with those of the American and European serotype 1 classic viruses and the American variant viruses. A 394bp fragment of the VP2 gene of the viruses tested in this study was amplified and the RE profiles were determined using six restriction enzymes (*DraI, BstOI, SacI, MboI, StyI, TaqI*).

The RT/PCR-RE test was applied to the reference serotype 1 classic viruses; STC, D78, SAL and variant IN viruses. The comparisons with the other classic viruses (F52/70, Cu-1) and variant viruses (MD, Del A, Ev) were made using the previously published RE profile data.

Overall evaluation of the RE results of the field viruses from both periods indicated the existence of 6 different RE profiles. Except the 2 profiles (Profile 2 and 6) which had similar profiles with the vaccines, 4 profiles (Profile 1, 3, 4 and 5) did not match with any of the American or European serotype 1 classic viruses or American variant viruses.

Keywords: IBDV, RT/PCR-RE, Turkey

GİRİŞ

İnfeksiyöz bursal hastalığı (IBD) genç piliçlerin akut, çok bulaşıcı, viral ve immunsupresif bir hastalığı olup, bursa Fabricius'un (BF) şiddetli yangısı ile karakterizedir (1, 11, 37). İnfeksiyöz bursal hastalığı, Cosgrove (11) tarafından 1962 yılında ilk kez rapor edildiği yer olan Delaware eyaletindeki "Gumboro" kasabasının ismiyle de tanınmaktadır.

İnfeksiyöz bursal hastalığı virusu (IBDV), Birnaviridae familyasında yer alan 58-60 nm çapında zarfsız, ikozahedral simetriye sahip, çift

[1] Dr.Veteriner Hekim, Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, İZMİR
[2] Uzm. Veteriner Hekim, Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, İZMİR

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

segmentli (Segment A ve B), çift sarmallı dsRNA yapısındadır (7, 14, 49). Genomun B segmenti yaklaşık 2900 baz çifti (bp) uzunluğundadır ve VP1 proteinini kodlar (47). Büyük segment A yaklaşık 3400 bp uzunluğundadır ve virus replikasyonu sırasında 110K moleküler ağırlığındaki poliproteine dönüşen open reading frame'i (ORF) içerir (21). Bu prekürsör poliprotein, daha sonra VP2 (40K), VP3 (32K), VP4 (28K), VP5 (21K) olarak 4 viral proteine ayrılır (3, 21, 48). Ayrıca VPX olarak tanımlanan 48K moleküler ağırlıkta VP2'nin prekürsör proteini de bulunmaktadır (14, 54). İnfeksiyöz bursal hastalığı viruslarının önemli proteinleri VP2 ve VP3'tür (14, 19). Nötralize edici antikorların oluşumundan, ayrıca serotip ve subtiplerin ayrımından sorumlu antijenik determinantlar sadece VP2 proteini üzerinde bulunur (2, 6, 19). VP3 üzerinde, nötralizasyon özelliği olmayan, her iki serotipe ortak grup spesifik antijenler bulunmaktadır (6).

Kros-virus nötralizasyon (VN) testlerine dayandırılarak infeksiyöz bursal hastalığı virusunun serotip 1 ve serotip 2 olarak isimlendirilen iki serotipi bulunmuştur (26, 44, 45). Serotip 1 grubu virusların tavuklarda patojen olduğu, serotip 2 grubunun ise patojen olmadığı bildirilmiştir (23, 27). Farklı iki serotipin varlığının yanında, serotip 1 grubu içinde antijenik ve patojenik alt tipler ortaya konmuştur (17, 28, 44, 50, 51, 59). Virus nötralizasyon testleriyle serotip 1 grubu içinde 6 farklı antijenik alt tip tespit edilmiştir (28). Bu alt tiplerin biri de varyant virusların içinde bulunduğu gruptur. Amerika Birleşik Devletlerinde ilk kez 1984 yılında serotip 1 grubu içinde klasik veya standart antijenik tipte viruslardan farklı "varyant" olarak isimlendirilen viruslar ortaya çıkmıştır (28, 51, 52). Varyant viruslar, serotip 1 grubu klasik antijenik yapıdaki IBDV aşılarına karşı yüksek titrede maternal antikor taşıyan sürülerden izole edilmiştir (24, 28, 51). Varyant virusların aşılı sürülerde subklinik enfeksiyonlar meydana getirdiği ve bu suşların antijenik farklılıkları yanında patojenik olarak da klasik viruslardan farklı oldukları bildirilmiştir. Varyant viruslar, klasik virusların aksine BF'ta minimum düzeyde yangıya, fakat hızlı bir atrofiye yol açmaktadır (42, 51). Serotip 1 grubu içindeki farklı antijenik yapıdaki virusların sahadaki maternal korunmada ve aşılamalardaki başarısızlıklarda rollerinin olduğu bildirilmektedir (25, 28, 44). Bu nedenlerle antijenik alt tiplerin ortaya konması sahada aşılama programları geliştirirken önem kazanmaktadır. Avrupa ülkelerinde yapılan çalışmalarda ve ülkemize ait sınırlı sayıda saha izolatı ile yapılan çalışmalarda gerçek antijenik varyant virusa rastlanmamıştır (17, 18, 43, 53, 57, 60). Ancak, virusun antijenik mutasyona uğramaya eğilimli olması, sahada bu konuda daha fazla çalışma yapılması gereksinimini ortaya koymaktadır.

Amerika Birleşik Devletlerinde antijenik varyant IBDV sorunu yaşanırken, 1987 yılında Belçika ve Hollanda'da başlayarak Avrupa'nın diğer ülkelerine, Orta Doğu, Afrika ve Orta Asya ile son zamanlarda da Güney Amerika ülkelerine hızla yayılan ve ülkemizde de günümüze kadar sorun olmaya devam eden çok virulent IBDV'nin (vvIBDV) yol açtığı salgınlar yaşanmıştır (10, 13, 17, 50, 59). Ani ve spontan olarak ortaya çıkan vvIBDV, broylerlerde %30'lara ve yumurtacılarda %80'lere varan yüksek ölümlere neden olarak kanatlı endüstrisini büyük ekonomik kayıplara uğratmıştır. Çok virulent IBDV'ye Avustralya, Yeni Zelanda ve A.B.D.'de rastlanmadığı bildirilmiştir (41).

Ülkemizde vvIBDV'nin neden olduğu salgınlar 1990'lı yılların başından itibaren günümüze kadar devam etmiştir. Salgınların başladığı yıllarda toplanan saha viruslarıyla Çöven (12), Ergün (16), Türe ve ark., (55, 56, 57, 58) tarafından yapılan çalışmalarda, izole edilen virusların, SPF piliçlerde %100 oranında ölüme neden olan çok virulent tipte oldukları ve serotip 1 grubunda, klasik antijenik yapıda oldukları rapor edilmiştir. Diğer bir çalışmada, Türkiye'den 1999 yılında toplanan 18 saha numunesi Fransa'da OIE'nin IBDV Referans Laboratuarlarında Eterradossi tarafından moleküler yöntemlerle karakterize edilmiştir (18). Türkiye'den incelenen bütün virusların, vvIBDV olduklarının bulunması ülkemizde önceden rapor edilen çalışma sonuçlarını teyit eder niteliktedir.

Serotip 1 grubunda yer alan vvIBDV'lerin neden olduğu salgınlar, iyi maternal korumaya sahip sürülerde serotip 1 grubu mevcut klasik antijenik yapıdaki intermediate veya hot karakterdeki aşıların doğru yöntemle ve doğru zamanda uygulanması ve bunlarla birlikte sıkı biyogüvenlik ve sanitasyon tedbirleri ile kontrol edilebilir. Ancak, antijenik varyant virusların varlığı halinde mevcut klasik aşılar korumada yetersiz kalacaktır. Bu durumda, varyant virusları içeren canlı ve inaktif aşıların kullanılması gerekmektedir.

Son yıllarda reverse transcriptase (RT) polymerase chain reaction (PCR) – restriction endonuclease (RE) veya restriction fragment length polymorphism (RFLP) teknikleri IBDV suşlarının VP2 geninin cDNA'sı üzerindeki enzim kesim noktalarının varlığını ortaya koyarak virus-

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

ların antijenik ve patojenik özelliklerini tahmin etmek amacıyla kullanılmıştır (9, 22, 29, 32, 36, 40, 46).

Bu çalışmada, ülkemizde 1990-1994 yıllarıyla, 1999-2003 yılları arasında IBDV salgını geçirmekte olan veya hastalık şüpheli sürülerden toplanan BF materyalleri RT/PCR-RE tekniğiyle incelenerek moleküler polimorfizmlerinin ortaya konması amaçlanmıştır. Sahada gözlenen RE profillerinin, Amerikan serotip 1 klasik ve varyant referens virusları ve Avrupa'dan köken alan klasik viruslar ile karşılaştırılması suretiyle antijenik varyantların varlığı araştırılmıştır.

MATERYAL VE METOT

Referans Viruslar: Amerikan IBD viruslarından serotip 1 klasik antijenik grupta yer alan STC, SAL ile serotip 1 varyant IN suşları Ohio State University, FAHRP, OARDC, Wooster, OH/ A.B.D'den Dr.Y.M.Saif'ten sağlandı. Serotip 1 grubu klasik D78 suşu Manisa Tavuk Hastalıkları Araştırma ve Aşı Üretim Enstitüsünden sağlandı. STC, SAL, D78 ve IN virusları civciv embriyo fibroblast (CEF) hücrelerinde pasajlanarak çoğaltıldı. Avrupa kökenli Serotip 1 grubu klasik F52/70 ve Cu-1 suşları, Amerikan varyant suşları MD, Delaware E (Ev), Delaware A (Del A) suşlarının RE profilleri, Jackwood ve ark.'nın çalışma sonuçları üzerinden değerlendirildi (29, 30).

Saha Virusları: Türkiye'de çeşitli coğrafik bölgelerden, IBD salgını geçirmekte olan veya hastalıktan şüpheli ticari broyler ve yumurtacı tip tavukçuluk işletmelerinden toplanan toplam 115 adet BF örneği incelendi. Saha örneklerinden 50 adedi IBD salgınlarının şiddetli seyrettiği 1990'lı yılların ilk dönemlerine (1990-1994) ait olup, BF homojenat sıvısı halinde Manisa Tavuk Hastalıkları Araştırma ve Aşı Üretim Enstitüsü'nden Dr. Fethiye Çöven'den sağlandı. Bu viruslar E1-E50 arasında isimlendirildi. Diğer 65 adet saha izolatı 1999-2003 yılları arasında toplandı (Y1-Y65). Bu gruptaki her örnek en az 3-5 adet BF'tan oluştu ve her izolat farklı bir kümes veya çiftliği temsil etti. Bursa Fabricius numunelerinin ortak nekropsi bulgusu; ödem, büyüme, kanama, eksudat birikimi ile bazen but kaslarında ve bezli midede kanamalardan ibaretti. Numuneler arasında atrofik BF'lara da rastlandı. Toplanan numunelerin hastalık yaş dönemi, 12- 63 gün ve ölüm oranları, ikinci dönemde toplanan numuneler için % 1-% 50 arasında değişti. Saha materyalleri coğrafik dağılım olarak Ege, Marmara, Batı Karadeniz ve İç Anadolu bölgelerinde tavukçuluğun yoğun yapıldığı İzmir, Manisa, Afyon, Bursa, Balıkesir, Bandırma, İstanbul, Bolu, Zonguldak, Konya ve Kayseri illerinden ve çevresinden toplandı.

Viral RNA Hazırlanması: Bursa Fabricius örneklerine hacimlerinin 2 misli TNE buffer (10mM Tris HCl (pH 8.0) 100 mM NaCl ve 1 mM EDTA) ilave edilerek homojenize (Ultraturrax-Diax 900, Heidolph) edildi. Referans virusların RNA'ları CEF hücre kültürü sıvısından ekstrakte edildi. Üç kez dondurulup çözdürülen bursal homojenat sıvısı veya hücre kültürü sıvısından viral RNA'nın ekstrakte edilmesinde Jackwood ve ark.'nın yöntemi kullanıldı (30, 32, 33). Virus örnekleri eşit hacimdeki chloroform (Sigma) ile iki kez ekstrakte edildikten sonra, sırasıyla % 0.5 ve 1.0 mg/ml final konsantrasyonlardaki sodium dodecyl sulphate (Sigma) ve proteinase K (Merck) ilave edilerek 37°C lik su banyosunda 1 saat inkübe edildi. Bu süre sonunda örnekler eşit hacimdeki acid phenol (pH 4.3) (Applichem) ve sonra chloroform: isoamyl alcohol (24:1) (Sigma) ile ekstrakte edildi. Viral RNA, 2M sodium acetate ve absolute ethanol (Riedel de-Haen) ilavesiyle bir gece –20°C'de presipite edildi. Viral RNA +4°C'de,14.000 rpm hızda, 30 dakika (Heraus Biofuge) santrifüj edilerek çöktürüldükten sonra üst sıvı uzaklaştırıldı. Viral RNA peletleri kurutuldu ve 100 µl % 90'lık dimethyl sulphoxide (DMSO, Sigma) ile süspanse edilerek -20°C de saklandı.

Reverse Transcriptase/Polymerase Chain Reaction (RT/PCR): İnfeksiyöz bursal hastalığı virusunun RT/PCR testlerinde çeşitli araştırıcılar tarafından bildirilen klasik metot kullanıldı (4, 29, 30, 39, 43, 46, 55). Ekstrakte edilen RNA'ları cDNA'ye çevirmek için DMSO içinde süspanse edilen viral RNA, 95°C de 5 dakika denatüre edildi. RT reaksiyonu; 500 mM KCl, 100 mM Tris HCl (pH 9.0), %1 Triton X-100, her deoxyribonucleotide triphosphate (dAATP, dTTP, dCTP, dGTP)'tan 200 µM (Promega), 1 µM konsantrasyonda primer (IBDV5' ve IBDV3'), 25 mM $MgCl_2$, Recombinant Rnasin (RNAse inhibitörü, 40U) (Promega), M-MLV Reverse transcriptase (200U) (Promega) içeren RT reaksiyon karışımı içinde thermal cycler'da (Techne, Genius) 42°C'de 1 saat inkübe edilerek gerçekleştirildi. İkinci aşamada PCR amplifikasyonu, 10X PCR Buffer, 2-4 µM arasında değişen oranlarda $MgCl_2$, 2.5U Taq DNA polymerase (Promega) ilave edilerek gerçekleştirildi. Amplifikasyon işlemi thermalcycler'da toplam 35 siklus olarak; 95°C'de 2 dakika (denatürasyon), 53°C'de 1.5 dakika (primerlerin tutunması), 72°C'de 1

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

dakika (polimerizasyon) ve ayrıca son siklusu takiben 72°C'de 7 dakikalık polimerizasyon süreleri uygu-lanarak gerçekleştirildi (29). Amplifikasyon so-nucu elde edilen cDNA ürünleri % 1.5'luk agarose (Basica LE, Prona) jelde elektroforez edildi. Ethidium bromide ile boyanan jeldeki pozitif cDNA bantları UV transilluminator'de (ETS Vilbert-Lourmat) gözlendi. Hedeflenen PCR ürünü aynı jel üzerinde bulundurulan DNA moleküler ağırlık standardı (MA) (GeneRuler 100 bp DNA Ladder, MBI Fermentas) ile karşılaştırılarak kontrol edildi ve jel fotoğrafları (Polaroid Gel Cam) çekildi.

Restriksiyon Enzimler (Restriction Endonuclease): İnfeksiyöz bursal hastalığı virus suşlarının alt tiplerinin belirlenmesi amacıyla seçilen *DraI, BstOI (EcoRII* veya izoşimeri *BstNI* yerine aynı gen dizilişini tanıyıp kesen *BstOI* enzimi kullanıldı*), SacI, MboI, StyI ve TaqI* (Promega) enzimleri, bu çalışmadaki referans virusların ve saha viruslarının 394 bp'lik RT/PCR ürünlerinin moleküler karakterizasyonu amacıyla kullanıldı (29, 30).

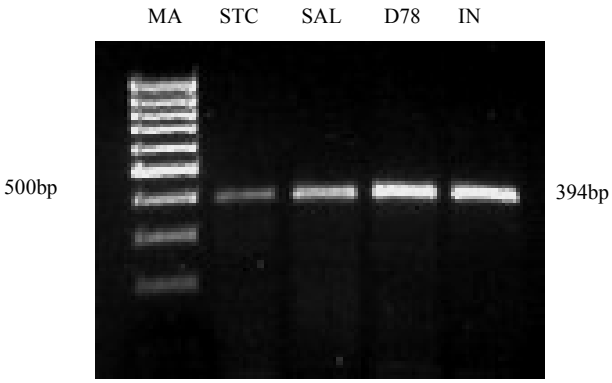
Restriction Endonuclease (RE) Analizi: Çeşitli araştırıcılar tarafından uygulanan yönteme göre ve üretici firmanın önerileri doğrultusunda gerçekleştirildi (32, 33, 55). Sekiz µl RT/PCR ürününe her bir enzimden 1 µl (tüm enzimlerin konsantrasyonu: 10 µ/µl), üretici firma tarafından enzimlerin beraberinde sağlanan 10 X Buffer'dan (Promega) 2 µl, acethylated bovine serum albumin'den (BSA) 0.2 µl ve 8.8 µl % 0.1'lik diethyl pyrocarbonate (Sigma) su ilave edildi. *BstOI* enzimi içeren ürün 60°C'de 1 saat, *TaqI* enzimi içeren ürün 65°C'de 1 saat ve diğer enzimleri içeren ürünler 37°C'de 1 saat su banyosunda inkübe edildi. Enzimlerle kesilmiş olan cDNA ürünleri % 2'lik agarose (Nu Micropor, Prona) jelde elektroforez edildi ve ethidium bromide ile boyama sonucunda bantlar UV transilluminatorde gözlenerek fotoğraflandı. Aynı jel üzerinde DNA moleküler ağırlık standardı (MA) ve enzimle reaksiyona girmemiş cDNA ürünü kontrol olarak bulunduruldu.

BULGULAR

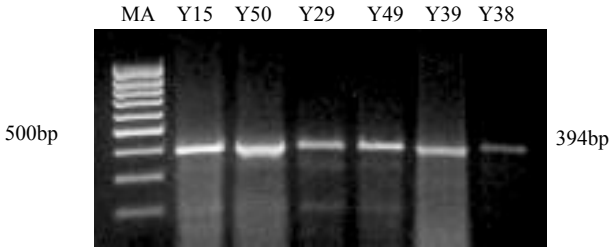
RT/PCR Sonuçları

Referans Viruslar: Klasik STC, SAL, D78 ve variant IN suşlarının VP2 geninin 394bp'lik RT/PCR ürünleri Şekil 1'de gösterilmiştir. Çalışmada referans virusların bant uzunluklarında farklılıklar gözlenmedi.

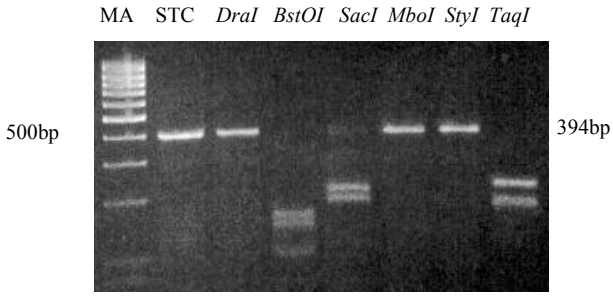
Saha Virusları: 1990-1994 yılları arasında toplanan 50 saha numunesinin 21 adedi (% 42), 1999-2003 yılları arasında toplanan 65 saha numunesinin 48 adedi (% 73.84) RT/PCR testinde pozitif bulundu. İkinci dönemi temsil eden virus örneklerinin VP2 geninin 394bp'lik cDNA'ları Şekil 2'te gösterilmiştir. Bu jelde RT/PCR örnekleri farklı RE profillerini yansıtacak şekilde seçilmiştir.



Şekil 1. IBDV referans virusların RT/PCR ürünleri. MA: 100bp Moleküler ağırlık standardı; STC, SAL, D78: Serotip 1 Klasik IBDV; IN: Serotip 1 Varyant IBDV



Şekil 2. 1999-2003 dönemine ait saha viruslarını temsil eden RT/PCR ürünleri. MA: 100bp Moleküler ağırlık standardı; Y15: Bandırma; Y50: Zonguldak; Y29:Şile/ Ağva; Y49: Balıkesir; Y39: Gördes/Balıkesir; Y38: Demirci/ Manisa IBDVizolatları



Şekil 3. Referans STC virusunun RE profili MA: 100bp moleküler ağırlık standardı; STC: RE ile kesilmemiş 394 bp'lik STC virus bandı; *DraI,BstOI,SacI, MboI, StyI, TaqI* enzimleri ile kesilmiş STC virusu 394bp bantları

RE Sonuçları

Referans Viruslar: Serotip 1 grubu klasik STC, F52/70, Cu-1, SAL, D78 ve variant MD, Del A, Ev, IN suşlarının RE profilleri Tablo 1'de gösterilmiştir. Bu viruslardan klasik STC, D78 ve varyant IN suşlarına ait RE sonuçları, sırasıyla Şekil 3, 4 ve 5'te gösterilmiştir.

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

Tablo 1. Referans virusların RE profilleri

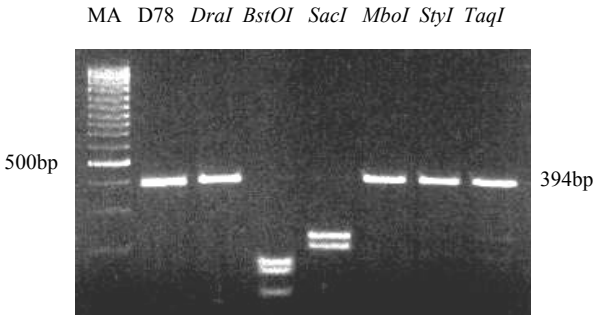
Serotip	Alt Tip	Referans Virus Adı	Restriksiyon Enzimleri [a]					
			DraI	*BstNI (BstOI)*	*SacI*	*MboI*	*StyI*	*TaqI*
Serotip 1	Klasik Viruslar	STC[b]	-	+	+	-	+	-
		STC[c]	-	+	+	-	-	+
		F52/70 [b]	-	+	+	-	+	-
		Cu-1 [b]	-	+	+	-	-	-
		D78[c]	-	+	+	-	-	-
		SAL[cd]	-	-	+	-	+	+
Serotip 1	Varyant Viruslar	MD [b]	-	-	+	-	-	+
		Ev [b]	-	-	+	-	-	+
		Del A [b]	+	-	-	+	-	+
		IN[c]	-	-	+	-	+	+

[a] Restriksiyon enzim kesim noktası var (+) /yok (-) olarak değerlendirilmiştir.
[b] RE sonuçları Jackwood ve ark.'larının çalışmasından alınmıştır (29,30).
[c] Bu çalışmada elde edilen RE profilleri
[d] Orijinal olarak Bursine (Solvay) aşı suşu olduğu için Bursine aşılarının RE profiline sahiptir.

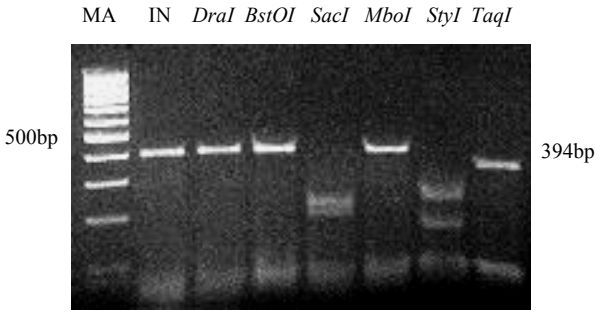
Tablo 2. 1990-1994 yıllarına ait saha viruslarının restriksiyon enzim analiz sonuçları

Profiller	İzolat Kodu [a]	Yöresi	Restriksiyon Enzimleri [b]					
			DraI	*BstNI (BstO)*	*SacI*	*MboI*	*StyI*	*TaqI*
Profil 1	E3	Ankara	-	-	-	-	+	+
	E4	Ankara	-	-	-	-	+	+
	E8	Bursa	-	-	-	-	+	+
	E14	İstanbul	-	-	-	-	+	+
	E16	İstanbul	-	-	-	-	+	+
	E17	İstanbul	-	-	-	-	+	+
	E20	İstanbul	-	-	-	-	+	+
	E21	İstanbul	-	-	-	-	+	+
	E22	İstanbul	-	-	-	-	+	+
	E26	İstanbul	-	-	-	-	+	+
	E30	İstanbul	-	-	-	-	+	+
	E34	İzmir	-	-	-	-	+	+
	E35	İzmir	-	-	-	-	+	+
	E42	Konya	-	-	-	-	+	+
	E45	Konya	-	-	-	-	+	+
Profil 2	E2	Ankara	-	-	+	-	+	-
	E23	İstanbul	-	-	+	-	+	-
	E38	İzmir	-	-	+	-	+	-
	E40	Konya	-	-	+	-	+	-
	E44	Konya	-	-	+	-	+	-
Profil 3	E7	Beypazarı	-	+	-	-	+	+

[a] Tabloda sadece RT/PCR pozitif olan saha örneklerinin RE sonuçları yer almıştır.
[b] Restriksiyon enzim kesim noktası var (+) / yok (-) olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 4. Referans D78 virusunun RE profili MA: 100bp moleküler ağırlık standardı; D78: RE ile kesilmemiş 394bp'lik D78 virus bandı; *DraI, BstOI, SacI, MboI, StyI, TaqI* enzimleri ile kesilmiş D78 virusu 394bp bantları



Şekil 5. Referans IN virusunun RE profili MA: 100bp moleküler ağırlık standardı; IN: RE ile kesilmemiş 394bp'lik INvirus bandı; *DraI, BstOI, SacI, MboI, StyI, TaqI* enzimleri ile kesilmiş IN virusu 394bp bantları

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

Tablo 3. 1999-2003 yıllarına ait saha viruslarının restriksiyon enzim analiz sonuçları

Profiller	İzolat Kodu [a]	Yöresi	Restriksiyon Enzimleri					
			Dra I	*BstNI (BstOI)*	*Sac I*	*MboI*	*Sty I*	*Taq I*
Profil 1	Y1	İzmir	-	-	-	-	+	+
	Y5	Afyon	-	-	-	-	+	+
	Y7	Konya	-	-	-	-	+	+
	Y8	Afyon	-	-	-	-	+	+
	Y10	İzmir	-	-	-	-	+	+
	Y12	Balıkesir	-	-	-	-	+	+
	Y13	M.K. Paşa, Karapürçek	-	-	-	-	+	+
	Y15	Bandırma	-	-	-	-	+	+
	Y16	Erdek	-	-	-	-	+	+
	Y17	Bandırma	-	-	-	-	+	+
	Y18	Bandırma	-	-	-	-	+	+
	Y19	Bandırma	-	-	-	-	+	+
	Y20	Bandırma	-	-	-	-	+	+
	Y21	Erdek	-	-	-	-	+	+
	Y22	İzmir	-	-	-	-	+	+
	Y23	Bandırma	-	-	-	-	+	+
	Y24	Bandırma	-	-	-	-	+	+
	Y25	Bandırma	-	-	-	-	+	+
	Y26	Bandırma	-	-	-	-	+	+
	Y27	Ç.Kale,Bostandere	-	-	-	-	+	+
	Y28	-	-	-	-	-	+	+
	Y31	Sakarya	-	-	-	-	+	+
	Y32	Düzce	-	-	-	-	+	+
	Y33	Sakarya	-	-	-	-	+	+
	Y34	İzmir	-	-	-	-	+	+
	Y40	Turgutlu	-	-	-	-	+	+
	Y41	İzmir	-	-	-	-	+	+
	Y42	İzmir	-	-	-	-	+	+
	Y44	Kayseri	-	-	-	-	+	+
	Y52	Bolu	-	-	-	-	+	+
	Y56	Bolu	-	-	-	-	+	+
	Y57	Bolu	-	-	-	-	+	+
	Y58	Bolu	-	-	-	-	+	+
	Y62	Bursa	-	-	-	-	+	+
	Y64	Akhisar	-	-	-	-	+	+
	Y65	Akhisar	-	-	-	-	+	+
Profil 4A[b]	Y6	Afyon	-	-	-	+	+	+
	Y45	Kayseri	-	-	-	+	+	+
	Y50	Zonguldak	-	-	-	+	+	+
	Y51	Zonguldak	-	-	-	+	+	+
	Y55	Bolu	-	-	-	+	+	+
Profil 4B [b]	Y29	Ağva, Şile	-	-	-	+	+	+
Profil 4C [b]	Y35	Bergama	-	-	-	+	+	+
	Y36	Salihli	-	-	-	+	+	+
	Y46	Kayseri,Başakpınar	-	-	-	+	+	+
	Y49	Balıkesir,Güneşli	-	-	-	+	+	+
Profil 5	Y38	Manisa, Demirci	-	-	-	-	-	+
Profil 6 [c]	Y39	Balıkesir, Gördes	-	-	+	-	+	+

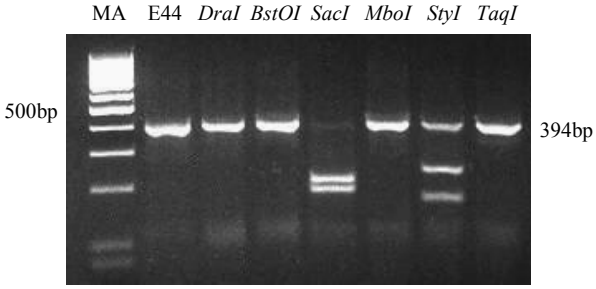
[a] Tabloda sadece RT/PCR pozitif olan saha örneklerinin RE sonuçları yer almıştır.
[b] cDNA'yi kestikten sonra ortaya çıkan bantların sayısı ve uzunlukları açısından viruslar arasında farklılıklar görülmesi nedeniyle farklı alt profil olarak değerlendirilenler
[c] Bursine 2, Bursine plus ve IN suşuna özel profil (30).

Saha Virusları: Hastalığın ülkemizdeki erken dönemleri olan 1990-1994 yıllarına ait 21 saha numunesinin RE sonuçları Tablo 2'de özetlenmiştir. Bu döneme ait viruslarda 3 farklı profil gözlendi. Onbeş virus içeren 1. profil grubunda her coğrafik bölgeden numuneler yeraldı. Bu grup

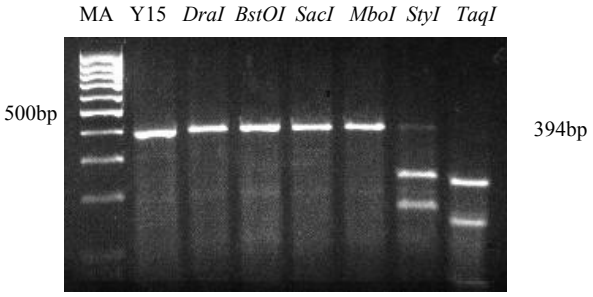
This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

viruslar, *StyI* ve *TaqI* enzimleriyle pozitif reaksiyon verdi. İkinci RE profilinde her coğrafik bölgeden orijin alan 5 virus saptandı ve bu viruslar, *SacI* ve *StyI* enzim kesim noktaları yönünden pozitif bulundu. Bu grubu temsil eden E44 kodlu numunenin RE jel fotoğrafı Şekil 6'da sunulmuştur. Üçüncü profil Beypazarı/Ankara'dan orijin alan tek virustan oluştu. Bu suş, *BstNI (BstOI), StyI* ve *TaqI* enzimleri ile pozitif bulundu.

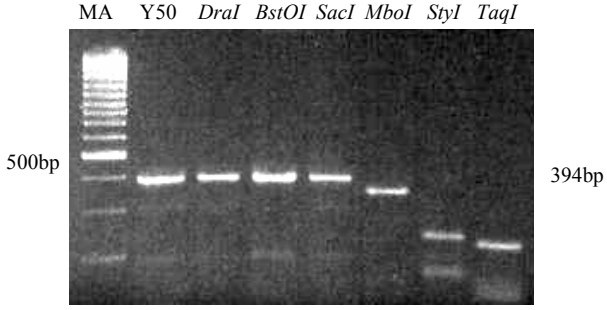
İkinci dönemde (1999-2003 yılları) toplanarak IBDV yönünden pozitif bulunan 48 saha numunesinin RE sonuçları Tablo 3'te özetlenmiştir. Bu döneme ait saha izolatları arasında 4 temel farklı RE profilinin olduğu görüldü. En yaygın görülen 1. profilde her coğrafik bölgeyi temsil eden 36 saha virusu yer aldı ve bu suşlar, 1990'lı yıllarda olduğu gibi *StyI* ve *TaqI* enzimleri yönünden pozitif bulundu. Bu grubun temsilcisi Y15 kod'lu saha virusunun RE jel fotoğrafı Şekil 7'de sunulmuştur. İlk dönemde gözlenen 2. ve 3. profilden sonra 1999-2003 yılları arasında toplanan saha materyali arasında dördüncü farklı profile rastlandı. Bu profildeki viruslar, *MboI*, *StyI* ve *TaqI* enzimleri yönünden pozitifti. Ancak, profil 4'te cDNA'nin *MboI* enzimi ile kesildikten sonra ortaya çıkardığı bantların moleküler ağırlıklarında farklılıklar gösteren 3 alt profil grubu (4A,4B,4C) gözlendi. Afyon, Kayseri, Zonguldak ve Bolu'dan orijin alan 5 izolat, 4A; Şile, Ağva'dan gelen bir izolat (Y29), 4B; İzmir, Manisa, Balıkesir, Kayseri'den orijin alan 4 izolat, 4C profilleri olarak isimlendirildi. Profil 4A, 4B, 4C'yi temsilen sırasıyla Y50, Y29, Y49 kodlu numunelerin RE sonuçları Şekil 8, 9 ve 10'da gösterilmiştir. Profil 5'te sadece *TaqI* enzimi için kesim noktası olan Manisa ilinden bir virus yer aldı. Y38 kod'lu bu virusun RE jel fotoğrafı Şekil 11'de sunulmuştur. Profil 6, Balıkesir/Gördes'ten gelen Y39 kod'lu bir numunede gözlendi. Bu numunenin RE jel fotoğrafı Şekil 12'de sunulmuştur.



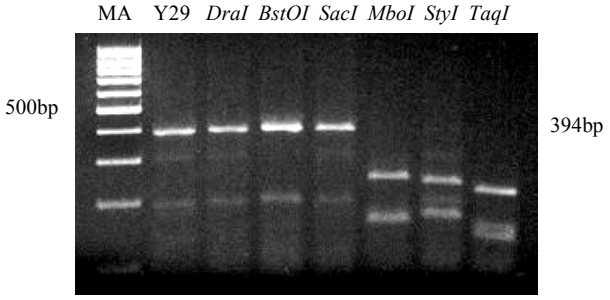
Şekil 6. Profil 2 temsilcisi E44 kod'lu (Konya) saha virusunun RE profili MA: 100bp moleküler ağırlık standardı; E44; RE ile kesilmemiş 394bp'lik E44 virus bandı; *DraI, BstOI, SacI, MboI, StyI, TaqI* enzimleri ile kesilmiş Y15 izolatı 394bp bantları



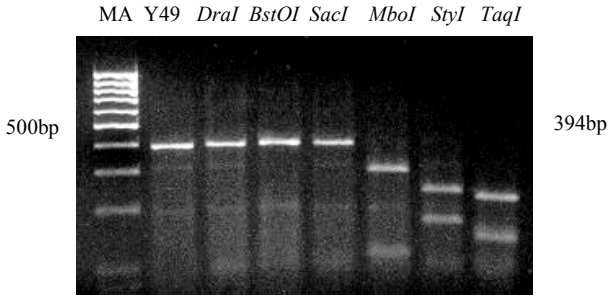
Şekil 7. Profil 1 temsilcisi Y15 kod'lu (Bandırma) saha virusunun RE profili MA: 100bp moleküler ağırlık standardı; Y15: RE ile kesilmemiş 394bp'lik Y15 virus bandı; *DraI, BstOI, SacI, MboI, StyI, TaqI* enzimleri ile kesilmiş Y15 izolatı 394bp bantları



Şekil 8. Profil 4A temsilcisi Y50 kod'lu (Zonguldak) saha virusunun RE profili MA: 100bp moleküler ağırlık standardı; Y50: RE ile kesilmemiş 394bp'lik Y50 virus bandı; *DraI, BstOI, SacI, MboI, StyI, TaqI* enzimleri ile kesilmiş Y50 izolatı 394bp bantları

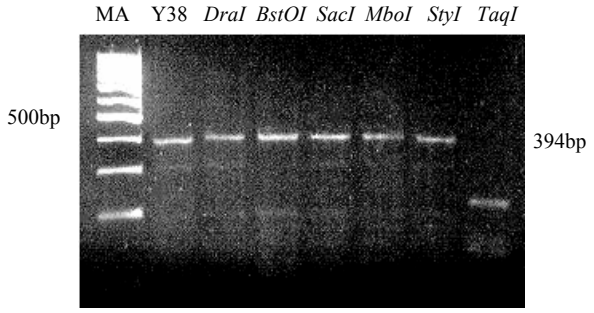


Şekil 9. Profil 4B temsilcisi Y29 kod'lu (Şile/Ağva) saha virusunun RE profili MA: 100bp moleküler ağırlık standardı; Y29: RE ile kesilmemiş 394bp'lik Y50 virus bandı; *DraI, BstOI, SacI, MboI, StyI, TaqI* enzimleri ile kesilmiş Y29 izolatı 394bp bantları



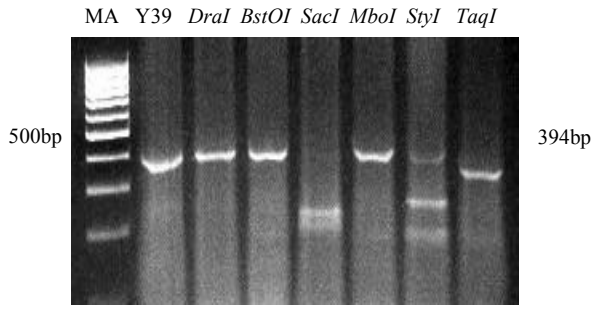
Şekil 10. Profil 4C temsilcisi Y49 kod'lu (Balıkesir) saha virusunun RE profili MA: 100bp moleküler ağırlık standardı; Y49: RE ile kesilmemiş 394bp'lik Y49 virus bandı; *DraI, BstOI, SacI, MboI, StyI, TaqI* enzimleri ile kesilmiş Y49 izolatı 394bp bantları

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com



Şekil 11. Profil 5 temsilcisi Y38 kod'lu (Demirci/ Manisa) saha virusunun RE profili MA: 100bp moleküler ağırlık standardı; Y38: RE ile kesilmemiş 394bp'lik Y38 virus bandı; *DraI, BstOI, SacI, MboI, StyI, TaqI* enzimleri ile kesilmiş Y38 izolatı 394bp bantları

,



Şekil 12. Profil 6 temsilcisi Y39 kod'lu (Gördes/Balıkesir) saha virusunun RE profili MA: 100bp moleküler ağırlık standardı; Y39: RE ile kesilmemiş 394bp'lik Y39 virus bandı; *DraI,BstOI,SacI, MboI, StyI,TaqI* enzimleri ile kesilmiş Y39 izolatı 394bp bantları

Bu çalışmada STC virusu Jackwood ve ark'nın sonuçlarından farklı olarak diğer klasik viruslara benzer bir profil gösterdi ve *BstOI (BstNI), SacI* enzimleriyle pozitif, diğer dört enzimle negatif reaksiyon verdi. D78 suşu, *BstOI* ve *SacI* pozitif reaksiyon verdi. SAL suşu, beklendiği gibi Bursine aşısının ve türevleri olan istisna RE profiline sahip Bursine 2 ve Bursine plus aşılarının profilini gösterdi. İstisna varyant IN virusunun RE profili bu çalışmada da *SacI, StyI* ve *TaqI* pozitif olarak gözlendi.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada Türkiye'de 1990-1994 ve 1999-2003 yılları arasındaki dönemlerde salgınlara neden olan IBD viruslarının VP2 geninin 394bp'lik bölümü RT/PCR-RE tekniğiyle, referans Amerikan ve Avrupa orijinli klasik ve Amerikan orijinli varyant antijenik yapıdaki viruslarla karşılaştırmalı olarak incelenmiştir.

İnfeksiyöz bursal hastalığı virusları mutasyon eğilimleri yüksek olan bir virus grubudur (35, 53). IBDV'nin VP2 geni üzerinde, nötralizan antikorların oluşumundan, serotip ve alt tiplerin ayrımından sorumlu antijen bulunmaktadır (2, 6, 19). VP2 geninin genel olarak nükleik asit sekans dizilişini koruduğu, ancak 206-350 aminoasit bölgesinde çok değişkenlik gösterdiği bildirilmiştir (5, 20, 38). Bu değişken bölge üzerindeki nükleik asit değişiklikleri, virus suşları arasındaki antijenik ve patojenik farklılıkların temelini oluşturmaktadır (8, 15, 20, 38). RT/PCR-RE testi, IBDV VP2 geni üzerindeki nötralize edici epitoplar üzerinde oluşan nokta mutasyonlarını tespit etmeye ve viruslar arası antijenik ilişkileri tahmin etmeye yönelik bir teknik olarak çeşitli araştırıcılar tarafından kullanılmıştır (29, 30, 34, 36, 39, 40, 46). Bu teknik ile sağlanan sonuçlar her ne kadar kros-VN veya *in vivo* kros-koruma sonuçlarıyla her koşulda örtüşmese de, bugüne kadar yapılan çalışmalarda serotip 1 grubu içindeki klasik ve varyant virusları birbirinden ayırt etmek amacıyla başarıyla kullanılmıştır (29, 30, 31).

Jackwood ve ark., serotip 1 grubu içinde alt tipi bilinen laboratuvar IBD virusları, IBDV aşıları ve saha viruslarının 394 bp'lik VP2 geni üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmada; tipik klasik virusların *BstNI (EcoRII)* enzimi için restriksiyon enzim kesim noktası taşıdıklarını ve varyant viruslar için bu enzimin negatif olması dolayısıyla klasik ve varyant virusları birbirinden ayırt edici özellik olduğunu rapor etmişlerdir (29, 30). Jackwood ve ark.'nın çalışmalarında varyant virusların ortak özelliği, *BstNI* ve *StyI* negatif olmalarıdır (Tablo 4). Diğer enzimlerle reaksiyonlarından kaynaklanan 2 alt RE grubuna (Varyant 1 ve 2) ayrılmışlardır. Bunlardan birisi MD, Ev gibi virusların yer aldığı *SacI* ve *TaqI* pozitif gruptur, diğeri Del A, S1084-A gibi virusların bulunduğu *DraI, TaqI* enzimleriyle pozitif RE aktivitesine sahip gruptur (29, 30). Jackwood ve ark.'nın bu çalışmalarında RE profilinde klasik virusların *BstNI, SacI* enzimleriyle pozitif, *TaqI* enzimi ile bazı viruslarda pozitif ve bazen de negatif olduğu rapor edilmiştir. Bu çalışmada yer alan diğer serotip 1 grubu klasik D78 virusu Jackwood ve ark.(30)'nın sonuçları ile aynı ve Avrupa kökenli klasik Cu-1 suşu ile benzer şekilde *BstNI* ve *SacI* enzimleri yönünden pozitif bulunmuştur (29).

STC virusu, serotip 1 grubunda yer alan klasik antijenik yapıda USDA'nin kullandığı patojen IBDV çalenç virusudur. F52/70 suşu da Avrupa'nın çalenç suşudur. Jackwood ve ark. (30)'nın çalışmalarında STC ve F52/70 suşlarının RE profilinde *BstNI, SacI, StyI* pozitif ve *DraI, MboI* ve *TaqI* negatif olarak rapor edilmiştir. O yıllarda diğer viruslara göre patojenitesi yüksek olan bu virusların klasiklerden istisna olarak *Sty*I enzimi için kesim noktası taşımaları onları diğer viruslardan ayırt edici özellik olarak bildirilmiştir (29). Bu

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

çalışmada, RT/PCR-RE testinde referans olarak kullanılan STC virusu ise tipik klasik viruslara benzer profil sergilemiştir. Jackwood ve ark. (30) tarafından STC virusunun BF orijinli veya BGM70 sürekli hücre kültüründe üretildikten sonra RE profilinde bir farklılık olmadığı bildirilmiştir (30). Bu projede *StyI* pozitif olan suşun *StyI* negatif duruma ve *TaqI* enzimi ile de negatif durumdan pozitif reaksiyona dönüşmesi, laboratuvarımızda STC suşunun farklı bir konakçı olan CEF primer hücrelerinde pasajlanmasının ve attenuasyonunun bir sonucu olabileceğini düşündürdü. Yapılan sağlama çalışmasında, kullanılan STC virusu, VP geninin 743bp'lik başka bir primeri ile amplifiye edilerek RFLP uygulandı ve STC'ye çok tipik olan profil gözlendi (veri gösterilmemiştir). Bu sonuç, STC virusunun identifikasyonu konusundaki şüpheleri ortadan kaldırdı.

Tipik klasik, varyant ve istisna klasik gruplandırmaların yanında hiç bir gruba uymayan, hem klasik (Bursine'in aşı türevleri olan Bursine 2, Bursine plus) hem de varyant (IN) viruslardan örnekleri içinde bulunduran karışık istisna durumların varlığı da rapor edilmiştir (30). Bursine 2 ve Bursine plus, daha önceden kros VN ile klasik serotip 1 grubunda değerlendirilen Bursine (aşı suşu SAL virusudur) aşısından köken almaktadır, ancak Bursine 2 ve Bursine plus için VN ile antijenik alt tip ortaya konmuş değildir. Bursine'in türevleri olması nedeniyle beklenen durum, bu aşıların da klasik serotip 1 grubunda olmasıdır. Ancak, bu aşı viruslarının RT/PCR-RE sonuçlarının VN sonuçları ile paralellik göstermediği anlaşılmıştır. Bursine 2 ve Bursine plus aşı virusları, varyant olduğu bilinen IN virusu ile aynı RE profilini göstermektedir. *In vivo* kros koruma çalışmalarında da varyant viruslara yakınlıkları ispatlanmıştır (25). Nükleik asit sekans analizleri de bu virusların genetik olarak yakınlıklarını göstermiştir (32). Bu projede yer alan referans viruslardan varyant IN, klasik SAL ve aşı suşlarının (Bursine 2, Bursine plus) RE sonuçları Jackwood ve ark. (30)'nın sonuçları ile aynı bulunmuştur.

VP2'nin küçük bölgesini kapsayan ve benzer enzimlerin kullanıldığı başka araştırıcıların (4, 36, 43) çalışmalarında Jackwood ve ark. (30)'nın sonuçlarını destekleyen sonuçlar alınmıştır.

Tüm bu bilgiler ışığında, ülkemize ait saha viruslarının RE profilleri, laboratuvarımızda incelenen ve önceden yayınlanmış profiller (29, 30, 31) göz önünde bulundurularak değerlendirilmiştir.

Türkiye saha viruslarının RT/PCR analizinde 1990-1994 yılları arasında toplanan 50 materyalin 21 adedi (% 42) IBDV yönünden RT/PCR pozitif bulundu. Bu numunelerin RE analizi sonucunda 3 farklı profil gözlendi (Tablo 2). *StyI* ve *TaqI* enzimleri için kesim noktaları bulunan profil 1 grubunda Ankara, Bursa, İstanbul, İzmir ve Konya illerinden 15 saha virusu bulunmaktaydı. Türkiye'de yaygın gözlenen bu profile benzer bir tablo Majo ve ark. (43)'nın İspanya'da 248bp'lik VP2 geni ile yaptıkları çalışmada da gözlenmiş, saha virusların RE analizinde *StyI* ve *TaqI* enzimleriyle pozitif oldukları bulunmuştur. Aynı virusların IBDV'nin çok virulent olma özelliğini ortaya koyabilen *SspI* enzim analizi sonucunda da Avrupa, Japonya ve İsrail'de izole edilen vvIBDV'lere benzer oldukları görülmüştür. Bu çalışmada ikinci profilde Ege, Marmara ve İç Anadolu bölgelerinden numuneler olup, *SacI* ve *StyI* pozitif özellik gösterdi (Şekil 6). Aynı profil İspanya'da da rastlandığı bildirilmiş (43) ve bu profilin klasik Amerikan Edgar suşu ile aynı özellikte olduğu rapor edilmiştir. Bizim çalışmamızda bu profil Nobilis Gumboro 228E aşısında da gözlenmiştir (verileri gösterilmemiştir). 1990'lı yıllarda toplanan saha numunelerinden profil 2'de bulunan 5 adedinin (E2, E23, E38, E40, E44) aynı enzimler için kesim noktasına sahip olması, Türkiye'de 1990'lı yıllarda bu aşının kullanılmış ve saha numunelerinden izole edilmiş olabileceğini düşündürmüştür. Üçüncü profile Ankara/Beypazarı'ndan gelen bir numunede rastlandı ve bu virus *BstOI, Sty ve TaqI* enzimleriyle pozitif, *SacI* ve *MboI* enzimleriyle negatif bulundu. Klasik viruslara benzer *BstNI (BstOI)* pozitif reaksiyon veren tek numune, E7 kod'lu numuneydi, ancak *SacI* enzimiyle pozitif, *StyI* enzimiyle de negatif reaksiyon vermesi dolayısıyla Amerikan klasik viruslarından ayrılmaktaydı (29, 30).

İkinci dönemde (1999-2003 yılları) toplanan 65 saha numunesinin 48'i (% 73.84) RT/PCR ile IBDV yönünden pozitif bulundu. Bu izolatlara uygulanan RE çalışması sonucunda dört farklı profil gözlendi. (Tablo 3) Bunlardan 36 virusun içinde bulunduğu en yaygın profil 1990'lı yıllarda gözlenen 1. profille aynı olup, *StyI* ve *TaqI* enzimleri ile pozitif reaksiyon verdi (Şekil 7). Dördüncü farklı profil olarak gözlenen saha virusları *MboI, Sty ve TaqI* enzimleri için kesim noktasına sahipti, ancak bu grupta *MboI* enziminin 394 bp'lik VP2 geni üzerindeki kesim noktaları ve ortaya çıkan bantların moleküler ağırlıklarındaki farklılıklar nedeniyle 3 alt grup (4A, 4B, 4C) gözlendi. Afyon, Kayseri, Zonguldak, Bolu'dan gelen 5 saha virusu 4A alt grubunda yer aldı (Şekil.8). İkinci alt profilde (4B) coğrafik olarak izole sayılabilecek Şile/Ağva'dan gelen tek numune (Şekil.9) yer aldı. Dördüncü profilin diğer alt profilinde (4C) (Şekil.

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

10), Ege ve İç Anadolu bölgesinden 4 virusun yer aldığı görüldü. Beşinci profil, sadece *TaqI* enzimiyle pozitif reaksiyon veren, Manisa/Demirci gibi dağlık coğrafyaya sahip izole bir yerden gelen bir numunede görüldü (Şekil 11). Profil 6'da Y39 kod'lu Balıkesir/Gördes'e ait bir izolat yeraldı (Şekil.12). Bu virus, A.B.D'de yapılan çalışmalarda da klasik ve varyant viruslardan istisna RE'ye sahip olduğu bildirilen Bursine 2, Bursine plus aşıları ve IN suşuna özel RE profili gösterdi (30). İstisna aşı RE profilinin (Bursine 2, Bursine plus) bu çiftlikte görülmesi, söz konusu aşıların bu çiftlikte kullanılmış ve BF'tan o dönemde aşı virusunun izole edilmiş olabileceğini gösterdi.

1990-2003 yıllarını kapsayan her iki dönemin saha viruslarının RE profil durumu, referans viruslarla karşılaştırmalı olarak Tablo 4'te özetlenmiştir. Her iki dönemin genel değerlendirmesi sonucunda Türkiye'de saha virusları arasında 6 RE profili saptandı. Her biri tek numunede gözlenen iki profil (3 ve 5) dışında diğer profillerin belli bir coğrafik dağılım takip etmeyip farklı yerlerde karma olarak bulundukları görüldü. Profil 2'de Nobilis Gumboro 228E aşısına ait RE profili gözlendi (yayınlanmamış sonuç). Profil 6'da gözlenen RE profili de istisna grupta yer alan bir aşı profili idi. Diğer 4 RE profilinden hiç biri Amerikan, Avrupa klasik veya Amerikan varyant veya aşı viruslarına benzer profil göstermedi. Jackwood ve ark. (30) Amerika ve Avrupa orijinli aşı ve laboratuvar viruslarının alt tiplerini RT/PCR-RE tekniğiyle ayırt edebilmişti. Ancak aynı araştırıcıların saha viruslarıyla yaptıkları çalışmalarda ve başka araştırıcılar tarafından çeşitli ülkelerde saha virusları ile yapılan taramalarda bilinen varyant veya klasiklere benzemeyen ve hiçbir alt gruba sokulamayan viruslara da sıklıkla rastlandığı bildirilmektedir (22, 31, 43, 46). Bu çalışmada ortaya çıkan, referans veya aşı viruslarına benzemeyen saha viruslarının RE profillerindeki moleküler farklılıkların, virusların biyolojik özelliklerine nasıl yansıdığının ilave *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarla araştırılması gerekmektedir.

Ayrıca, salgınların başladığı dönemlerde toplanan BF materyallerinin de incelenmesi sonucu, Türkiye'ye ait çok sayıda IBD saha virusunun moleküler polimorfizminin ortaya konmuş olması, çalışmanın epidemiyolojik önemini arttırmaktadır. Bu çalışma kapsamında da ortaya konduğu şekilde, bugüne kadar Avrupa'da (17, 43, 59) ve Türkiye'de (56, 57) gerçek antijenik varyant virusa rastlanmadığı rapor edilmekle beraber, sahadaki virusların gelişmiş moleküler tekniklerle hızlı ve sık olarak taranmasında yarar olduğu düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu yayın, Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'nde yürütülen TAGEM/HS/2000/13/02/50 kod'lu projenin bir bölümünden hazırlanmıştır.

Projeyi destekleyen TAGEM'e, numune toplanması için ülke çapında organizasyon desteği veren KKGM'ne teşekkür ederiz. Enstitüde laboratuvar altyapısı oluşturulmasında ve projenin yürütülmesinde desteğini esirgemeyen Müdürlerimiz Özer ALTUĞ ve Necdet AKKOCA'ya şükranlarımızı iletiriz. Numune desteği sağlayan Dr. Fethiye ÇÖVEN'e, Veteriner Kontrol Araştırma Enstitüleri, Tarım İl Müdürlükleri ve Tavukçuluk Entegrasyonlarındaki Veteriner Hekimlere teşekkür ederiz. Laboratuvarda destekleri olmadan gerçekleştiremeyeceğimiz çalışmamızın yardımcı teknik personeline teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. **Allan, W.H., Fragher, J.T., Cullen, G.A**. (1972) *Immunosupression by the infectious bursal agent in chickens immunized against Newcastle disease.* Vet.Rec., 90: 511-512.
2. **Azad, A.A., Jagadish, M.N., Brown, M.A., Hudson P.J.** (1987) *Deletion mapping and expression in the Escherichia coli of the large genomic segment of birnavirus.* Virology, 161: 145-152.
3. **Azad, A.A., Baret, S.A., Fahey, K.J.** (1985) *Characterization and molecular cloning of the double-stranded RNA genome of an Australian strain of infectious bursal disease virus.* Virology, 143: 35-44.
4. **Banda, A., Villegas, P., El-Attrache, J., Estevez, C.** (2001) *Molecular characterization of seven field isolates of infectious bursal disease virus obtained from commercial broiler chickens.* Avian Dis., 45 (3): 620-630.
5. **Bayliss, C.D., Spies, U., Shaw, K., Peters, R.W., Papageorgiou, A., Müler, H., Boursnel, M.E.G.** (1990) *Comparisons of the sequences of segment A of four infectious bursal disease virus strains and identification of a variable region in VP2.* J. Gen.Virol., 71: 1303-1312.
6. **Becht, H., Müler, H., Müler, H.K.** (1988) *Comparative studies on structural and antigenic properties of two serotypes of infectious bursal disease virus.* J. Gen. Virol., 69: 631-640.
7. **Brown, F.** (1986) *The classification and numenculature of viruses: Summary of results of meetings of the international Committee on Taxonomy of Viruses in Sendai*. Intervirology, 25: 141-143.
8. **Brown, M.D., Gren, P., Skinner, M.A**. (1994) *Comparison of "very virulent" with "classical virulent" IBDV to identify virulence determinants.* Proc. Intern. Symp. on Infectious Bursal Disease and

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

Chicken Infectious Anemia, Rausholzhausen, Germany, pp: 83-92.

9. **Cao, Y.C., Yeung, W.S., Law, M., Bi, Y.Z., Leung, F.C., Lim, B.L.** (1998) *Molecular characterization of seven Chinese isolates of infectious bursal disease virus: classical, very virulent and variant strains.* Avian Dis., 42: 340-351.
10. **Chettle, N.J., Stuart, J.C., Wyeth, P.J.** (1989) *Outbreak of virulent infectious bursal disease in East Anglia*. Vet. Rec., 125: 271-272.
11. **Cosgrove, A.S.** (1962) *An apparently new disease of chickens – avian nephrosis*. Avian Dis., 6: 385-389.
12. **Çöven, F.** (1995) *Broyler ve yumurtacı tavuklarda Gumboro Hastalığının insidensi ve virus izolasyonu.* Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi. Doktora tezi
13. **DeFabio, J., Rossini, L., Eterradossi, N., Toquin, D., Gardin Y**. (1999) *European like pathogenic infectious bursal disease virus in Brazil.* Vet. Rec., 145: 203-204.
14. **Dobos, P., Hill, B.J., Hallet, R., Kells, D.T.C., Becht, H., Teninges, D.** (1979) *Biophysical and biochemical characterization of five animal viruses with bi-segmented double-stranded RNA genomes.* J.Virol., 32: 593-605.
15. **Dormitorio, T.V., Giambrone, J.J., Duck, L.W.** (1997) *Sequence comparisons of the variable VP2 region of eight infectious bursal disease virus isolates.* Avian Dis., 41: 36-44.
16. **Ergün, A.** (1995) *Klinik ve subklinik Gumboro vakalarından virus izolasyonu ve serotiplendirilmesi.* Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doktora Tezi.
17. **Eterradossi, N., Picault, J.P., Drouin, P., Guittet, M., L'Hospitalier, R., Bennejean, G.** (1992) *Pathogenicity and preliminary antigenic characterization of six infectious bursal disease virus strans isolated in France from acute outbreaks.* Zentralbl. Veterinarmed. B., 39 (9): 683-691.
18. **Eterradossi, N.** (2003) *Antigenic and genomic characterization of Turkish isolates of infectious bursal disease.* OIE, AFSSA, Report No: 020652.
19. **Fahey, K.J., Erny, K.M., Crooks, J.** (1989) *A conformational immunogen on VP2 of infectious bursal disease virus that passively protects chickens*. J. Gen.Virol., 70: 1473-1481.
20. **Heine, H.G., Haritou, M., Failla, P., Fahey, K., Azad, A.A**. (1991) *Sequence analysis of expression and the host specific immunogen VP2 of a variant strain of infectious bursal disease virus which can circumvent vaccination with standart type I strains*. J. Gen. Virol., 72: 1835-1843.
21. **Hudson, P.J., McKern, N.M., Power, B.E., Azad, A.A.** (1990) *Genomic structure of the large RNA segment of infectious bursal disease virus.* Nucl. Acids Res., 14: 5001-5012.
22. **Ikuta, N., El Attrache, J., Villegas, P., Garcia, E.M., Lunge, V.R., Fonseca, A.S., Oliveria, C., Marques, E.K.** (2001) *Molecular characterization of Brazilian infectious bursal disease viruses.* Avian Dis., 45 (2): 297-306.
23. **İsmail, N., Saif, Y.M., Moorhead, P.D.** (1988) *Lack of pathogenicity of five serotype 2 infectious bursal disease viruses in chickens.* Avian Dis., 32: 757-759.
24. **İsmail, N.M., Saif, Y.M., Wigle, W.L., Havenstein, G.B., Jackson, C.** (1990). *Infectious bursal disease virus variant from commercial leghorn pullets.* Avian Dis., 34: 141-145.
25. **İsmail, N., Saif, Y.M.** (1991) *Immunogenicity of infectious bursal disease viruses in chickens.* Avian Dis., 35: 460-469.
26. **Jackwood, D.J., Saif, Y.M., Hughes, J.H.** (1982) *Characteristics and serologic studies of two serotypes of infectious bursal disease virus in turkeys*. Avian Dis., 26: 871-882.
27. **Jackwood, D.J., Saif, Y.M., Moorhead, P.D.** (1985) *Immunogenicity and antigenicity of infectious bursal disease virus serotypes I and II in chickens.* Avian Dis., 29: 1184-1194.
28. **Jackwood, D.H., Saif, Y.M.** (1987) *Antigenic diversity of infectious bursal disease viruses.* Avian Dis., 31: 766-770.
29. **Jackwood, D.J., Jackwood, R.J.** (1994) *Infectious bursal disease viruses: Molecular differentiation of Antigenic subtypes among serotype 1 viruses*. Avian Dis., 38: 531-537.
30. **Jackwood, D.J., Jackwood, R.J.** (1997) *Molecular identification of infectious bursal disease virus strains.* Avian Dis., 41: 97-104.
31. **Jackwood, D.J., Nielsen, C.K.** (1997) *Detection of infectious bursal disease viruses in commercially reared chickens using the reverse transcriptase/ polymerase chain reaction-restriction endonuclease assay.* Avian Dis., 41: 137-143.
32. **Jackwood, D.J., Sommer, S.E.** (1997) *Restriction fragment length polymorphisms in the VP2 gene of infectious bursal disease viruses.* Avian Dis., 41: 627-637.
33. **Jackwood, D.J., Sommer, S.E.** (1998) *Genetic heterogeneity in the VP2 gene of infectious bursal disease viruses detected in commercially reared chickens*. Avian Dis., 42: 321-339.
34. **Jackwood, D.J., Sommer, S.E.** (1999) *Restriction fragment length polymorphisms in the VP2 gene of infectious bursal disease viruses from outside the United States*. Avian Dis., 43: 310-314.
35. **Jackwood, D.J.** (2001) *Molecular identification of infectious bursal disease virus strains. Vineland Laboratories publication*. http://www.vinelandlabs.com/pages/pub62.html

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

36. **Kataria, R.S., Tiwari, A.K., Butchaiah, G., Kataria, J.M.** (1999) *Differentiation of infectious bursal disease virus strains by restriction analysis of RT/PCR-amplified VP2 gene sequences*. Acta Virol., 43 (4): 245-249.

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

38. **Lana, D.P., Beisel, C.E., Silva, R.F.** (1992) *Genetic mechanisms of antigenic variation in infectious bursal disease virus: analysis of naturally occurring variant virus*. Virus Genes, 3: 247-259.

39. **Lin, Z., Kato, A., Otaki, Y., Nakamura, T., Sasmaz, E., Ueda, S**. (1993) *Sequence comparisons of highly virulent infectious bursal disease virus prevalent in Japan*. Avian Dis., 37: 315-323.

40. **Liu, H., Giambrone, J.J., Dormitorio, T.** (1994) *Detection of genetic variations in serotype 1 isolates of infectious bursal disease virus using polymerase chain reaction and restriction endonuclease analysis.* J. Virol. Methods, 48: 281-291.

41. **Lukert, P.D., Saif, Y.M.** (2003*) Infectious bursal disease.* 161-179. In: Saif, Y.M., Barnes, H.J., Fadly, A.M., Gisson, J.R., McDougald, L.R., Swayne, D.E. (Eds): Diseases of Poultry, 11th ed., Blackwell Publishing Company, Iowa State Press.

42. **Lukert, P.D., Mazageriegos, L.A., Craft, D.W.** (1990) *Antigenic, biologic and immunosuppressive comparisons of standart and variant strains of infectious bursal disease virus.* Proc. 127th AVMA Meet. San Antonio, TX, p.105.

43. **Majo, N., El Attrache, J., Banda, A., Villegas, P., Ramis, A., Pages, A., Ikuta, N.** (2002) *Molecular characterization of Spanish infectious bursal disease virus field isolates*. Avian Dis., 46 (4): 859-868.

44. **Mc Ferran, J.B., McNulty, M.S., McKillop, E.R., Conner, T.J., McCracken, R.M., Collins, D.S., Allan, G.M.** (1980) *Isolation and serological studies with infectious bursal disease viruses from fowl, turkey and duck: Demonstration of a second serotype*. Avian Pathol., 9: 395-404.

45. **McNulty, M.S., Saif, Y.M. (1988)** *Antigenic relationship of non serotype 1 turkey infectious bursal disease viruses.* Avian Dis., 32: 374-375.

46. **Meir, R., Jackwood, D.J., Weisman, Y.** (2001) *Molecular typing of infectious bursal disease virus of İsraeli field and vaccine strains by reverse transcription/polymerase chain reaction/restriction fragment length polymorphism assay*. Avian Dis., 45 (1): 223-228.

47. **Morgan, M.M., Macreadie, I.G., Harley, V.R., Hudson, P.J., Azad, A.A**. (1988) *Sequence of the small double-stranded RNA genomic segment of infectious bursal disease virus and its deduced 90kDa product*. Virology, 163: 240-242.

48. **Mundt,E.J., Beyer, H., Müler, H.** (1995) *Identification of a novel viral protein in infectious bursal disease virus infected cells*. J. Gen. Virol. 76: 437-443.

49. **Müller, H., Scholtissek, C., Becht, H**. (1979) *The genome of infectious bursal disease virus consists of two segments of double stranded RNA*. J. Virol., 31: 584-589.

50. **Nunoya, T., Otaki, Y., Tajima,M., Hiraga, M., Saito, T**.(1992) *Occurrence of acute infectious bursal disease with high mortality in Japan and pathogenicity of field isolates in specific pathogen free chickens*. Avian Dis., 36: 597-609.

51. **Rosenberger, J.K., Cloud, S.S.** (1986) *Isolation and characterization of variant infectious bursal disease viruses* (abst) J. Am. Vet. Med. Assoc., 189: 357.

52. **Saif, Y.M.** (1984) *Infectious bursal disease virus types.* Proc. 19th Natl. Meet. Poult. Health Condemn: Ocean City, MD, 105-107.

53. **Snyder, D.B.** (1990) *Changes in the field status of infectious bursal disease virus*. Avian Pathol., 19: 419-423.

54. **Ture, O., Saif, Y.M.** (1992) *Structural proteins of classic and variant strains of infectious bursal disease viruses.* Avian Dis., 36: 829-836.

55. **Ture, O., Saif, Y.M., Jackwood, D.J.** (1998) Restriction fragment length polymorphism analysis of highly virulent strains of infectious bursal disease viruses from Holland, Turkey and Taiwan. Avian Dis., 42: 470-479.

56. **Türe, O., Çöven, F.** (1999) Türkiye'deki infeksiyöz bursal hastalığı salgınlarından çok virulent virusların izolasyonu ve serotiplendirilmesi. Turk. J. Vet. Anim. Sci., 23: 243-254.

57. **Türe, O., Çöven, F., İçin, S.** (1999) *Türkiye'de çeşitli bölgelerden izole edilen çok virulent infeksiyöz bursal hastalığı viruslarının antijenik benzerlikleri*. Turk. J. Vet. Anim. Sci., 23: 69-76.

58. **Türe, O., Çöven, F.** (1999) *SDS-PAGE ve Western immunoblotting teknikleri kullanarak Türkiye'de izole edilen çok virulent infeksiyöz bursal hastalığı viruslarının karşılaştırmalı analizi.* Turk. J. Vet. Anim. Sci., 23: 83-92.

59. **Van den Berg, T.P., Gonze, M., Muelemans, G.** (1991) *Acute infectious bursal disease in poultry: isolation and characterization of highly virulent strain*. Avian Pathol., 20: 133-143.

60. **Van der Marel, P., Snyder, D.B., Lütticken, D.** (1990) *Antigenic characterization of IBDV field isolates by their reactivity with a panel of monoclonal antibodies*. Dtsch. Tierarztl. Wochenschr., 97: 81-83.
.

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

Bornova Vet. Kont. Araşt.
Enst. Derg., 29 (43): 17-23, 2007

İZMİR YÖRESİ KEÇİLERİNDE *SARCOCYSTİS* TÜRLERİNİN YAYGINLIĞI*

THE PREVALENCE OF CAPRINE *SARCOCYSTIS* SPECIES IN IZMIR PROVINCE*

Ayşen BEYAZIT[1] Öznur YAZICIOĞLU[2] Zafer KARAER[3]

Geliş Tarihi (Received): 22.02.2007 Kabul Tarihi (Accepted): 07.08.2007

ÖZET

İzmir yöresindeki keçilerde *Sarcocystis* türlerinin yaygınlığını belirlemek için dört farklı yaş grubundan 100 keçiye ait toplam 377 kas örneği tripsin tekniği ve histolojik muayene metotları ile incelendi. Çalışmada, İzmir ilindeki keçilerde *Sarcocystis* enfeksiyonlarından sorumlu türlerin *Sarcocystis capracanis, S. hircicanis* ve *S. moulei* olduğu tespit edildi. İncelenen 100 keçinin 15 (% 15)'inde makroskobik *S. moulei* kistleri bulundu ve kistlere en çok özefagusta rastlandı. Keçilerin 81 (% 81)'inde, *S. capracanis* ve *S. hircicanis* mikrokistleri mevcuttu. Enfeksiyon oranının yaşla birlikte arttığı gözlendi. Mikrokistlere, en erken bir aylık bir oğlakta rastlandı ve 0-6 aylık yaştaki oğlakların % 24'ünde, diğer yaş gruplarındaki keçilerin ise tümünde (% 100) mikrokist tespit edildi. Keçilerin 14 adedinde (% 14) *S. capracanis* tek başına, 67 adedinde (% 67) *S. capracanis* ve *S. hircicanis* birlikte görüldü. Keçilerin hiçbirinde *S. hircicanis* tek tür olarak tespit edilemedi. Histopatolojik olarak; dejenere olanlar hariç, kistlerin çevresinde yangısal bir reaksiyon görülmedi. İki teşhis metodu (tripsin tekniği ve histolojik muayene) arasında istatistiksel olarak önemli bir fark (p>0.05) bulunmadı.

Anahtar kelimeler: İzmir, keçi, prevalans, *Sarcocystis capracanis, Sarcocystis hircicanis, Sarcocystis moulei*

SUMMARY

In this study, a total of 377 muscle samples of 100 goats, from four different age groups, were surveyed by the trypsin technique and histological examination method to determine the prevalence of caprine *Sarcocystis* species in Izmir province. *Sarcocystis capracanis*, *S. hircicanis and S. moulei* were detected as the responsible species for *Sarcocystis* infections in goats in Izmir province. Macrocysts of *S. moulei* were found in 15 (15 %) goats and the highest prevalence was detected in the oesophagus. Microcysts of *S. capracanis* and *S. hircicanis* were present in 81 (81 %) goats. The prevalence of infection increased with the age. Microcysts were seen the earliest in a one-month-old goat kid. They were detected in 24 % of goat kids up to 6 months of age and also in all goats (100 %) of the other age groups. Fourteen (14 %) of 81 goats with microcysts were only infected by *S. capracanis*, and 67 (67 %) had mixed infection by *S. capracanis* and *S. hircicanis*. Histologically, no inflammatory reaction was seen around microcysts, unless they degenerated. No significant difference (p>0.05) was found between sensitivities of two diagnostic methods (trypsin technique and histological examination).

Key words: Izmir, goat, prevalence, *Sarcocystis capracanis, Sarcocystis hircicanis, Sarcocystis moulei*

GİRİŞ

Sarcosporidiosis, *Sarcocystis* soyuna bağlı protozoonlar tarafından oluşturulan ve çeşitli hayvan türlerinde yaygın olarak görülen bir enfeksiyondur (8, 18, 33). *Sarcocystis* enfeksiyonları, hayvanlarda iştahsızlık, kilo ve yün kaybı, ateş, anemi, miyositis, ensefalitis, abortus, prematüre doğum ve bazen ölüme sebep olabilir (8).

Keçilerde, kaslarda makroskobik ya da mikroskobik kistler oluşturan üç *Sarcocystis* türü olduğu ortaya konmuştur. Bunlardan *Sarcocystis moulei* makroskobik kistler oluşturan, kediler aracılığıyla bulaşan ve patojen olmayan türdür. Kesin konakçısı köpekler olan *S. capracanis* ve *S. hircicanis* ise arakonakçı keçilerde mikroskobik kistleri oluşturan patojen türlerdir (8).

Keçilerde yapılan çalışmalarda; Amerika, Teksas'da % 60.8 (7), Hindistan'da % 28.75-73.33 arasındaki oranlarda (5, 23, 26, 28-32, 36), Ürdün'de % 56.4 (1), Irak'ta % 97-97.4 (4, 17), Etiyopya'da % 36-81 (12, 38), Çin'de % 57.6 (37) ve Bulgaristan'da % 89 (24) oranında mikrokist görüldüğü bildirilmiştir. Türkiye'de keçilerde *Sarcocystis* türlerinin yaygınlıkları üzerine yapılmış çalışmalar az olmak-

* TAGEM/HS/98/10/04/034 nolu Tarım ve Köyişleri Bakanlığı projesinden özetlenmiştir.
[1] Uzman Veteriner Hekim, Dr. Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, Parazitoloji Bölümü, Bornova, İZMİR
[1] Uzman Veteriner Hekim, Dr. Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, Patoloji Bölümü, Bornova, İZMİR
[1] Prof. Dr. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Protozooloji ve Entomoloji Bilim Dalı, Dışkapı, ANKARA

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

la birlikte; *Sarcocystis* mikrokistleri, İstanbul (20), Ankara (11, 25) ve Elazığ'da (27) % 100, Van'da (35) ise % 98 oranlarında tespit edilmiştir.

Bu çalışma, İzmir yöresindeki keçilerde mevcut *Sarcocystis* türlerinin yaygınlığını iki farklı teşhis metodu (tripsin tekniği ve histolojik muayene) kullanarak araştırmak ve parazitli kaslarda görülen lezyonları belirlemek amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL VE METOT

Çalışmanın materyalini, İzmir yöresinde yetiştirilen ve gerek çeşitli mezbahalarda kesilen ve gerekse Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'nde hastalık teşhisi amacıyla nekropsisi yapılan 100 keçiye ait kas örnekleri oluşturdu. Bu amaçla keçilerin özefagus, diyafram ve kalpleri ile nekropsisi yapılan altı aylıktan küçük oğlakların dil ve iskelet kası örnekleri de olmak üzere toplam 377 kas örneği, makroskobik ve mikroskobik *Sarcocystis* kistleri yönünden tripsin tekniği ve histolojik muayene metotları ile araştırıldı. Altmış adet keçinin iç organ örnekleri de *Sarcocystis* şizontları yönünden histolojik olarak muayene edildi. Keçiler; 0-6 aylık, 6 aylık-1 yaş, 1-2 yaş ve 2 yaş üzeri olmak üzere dört gruba ayrıldı. Her yaş grubundan, 25'er keçiye ait kas örnekleri işlendi.

Kas örnekleri önce makroskobik *Sarcocystis* kistleri yönünden çıplak gözle muayene edildi. Kistler sayıldı ve ölçüleri kaydedildi. Daha sonra örnekler, mikroskobik kistler yönünden tripsin tekniği ve histolojik muayeneler için iki gruba ayrıldı. Tripsin tekniği için; her kas örneğinden 10'ar gram tartılarak mikserde parçalandı. Daha sonra NaCl bufferlı % 0.25'lik tripsin solüsyonunda muamele edildi (10). Süspansiyon, 10-15 dakika bekletildikten sonra süzüldü ve konik dipli tüplerde santrifüj edildi. Dipteki çökeltiden lam üzerine 1-2 damla alınarak mikroskopta mikrokistler yönünden muayene edildi.

Histolojik muayeneler için makrokist görülen ve görülmeyen kas örnekleri, nekropsi sırasında ya da kesim işleminden en geç iki saat sonra alınarak % 10 nötral bufferlı formalin solüsyonunda tespit edildi. Rutin doku işleme yöntemleriyle parafin doku blokları hazırlandı ve 4-5 µm kalınlığında alınan doku kesitleri, hematoksilen-eosin (HE) ile boyandı. Doku kesitlerinde mevcut *Sarcocystis* türünün tanımlanabilmesi için kistlerin duvar morfolojisi, ışık mikroskobunda immersiyon objektif altında incelendi.

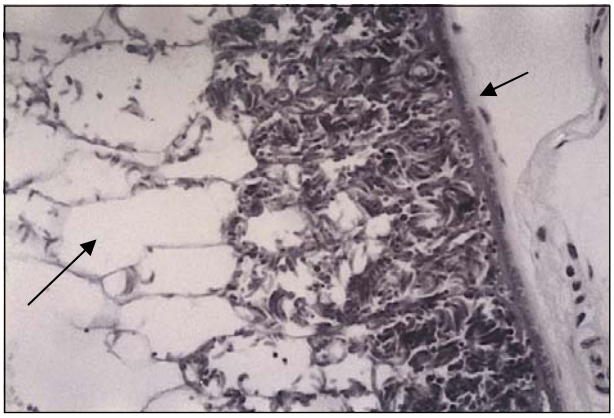
Her iki muayene metodu ile kaslarda saptanan mikrokistlerin tür tayinleri, Dubey ve ark. (8) tarafından kist duvarlarının morfolojisinde bildirilen farklara göre yapıldı. İki teşhis metodunun duyarlılıkları ile *Sarcocystis* mikrokistlerinin, dört farklı yaş grubunda incelenen keçilerde farklı kaslara ve cinsiyete göre görülme sıklıkları, istatistiksel olarak z testi ile kontrol edildi (15). $p<0.001$'lik değerler önemli olarak kabul edildi.

BULGULAR

İncelenen 100 keçinin 15 (% 15)'inde *Sarcocystis* türlerine ait makrokistlere rastlandı. Makrokistlerin farklı kaslarda yaş gruplarına göre dağılımı Tablo 1'de verilmiştir. Beyaz-krem renginde ve yuvarlak-oval şekilde gözlenen makrokistlerin sayıları 1-160 arasında değişti. Boyutları 1-10 x 0,5-7 mm. ölçüldü.

Tablo 1. Keçilerde farklı organ kaslarında *Sarcocystis* makrokistlerinin dağılımı.

	Makrokistli Keçi Sayısı Yaş Grubu				
Organ	0-6 ay	6 ay-1 yaş	1-2 yaş	2 yaş üstü	Toplam (%)
Özefagus	-	2	5	6	13 (13)
Özefagus+Dil	-	-	-	2	2 (2)
Toplam (%)	-	2 (8)	5 (20)	8 (32)	15 (15)



Şekil 1. Özefagus. *S. moulei* makrokistinin duvarı (kısa ok) ve iç yapısından bir görünüş. Kistin belirgin septumlar ile ayrılmış kompartımanları (uzun ok) periferde bradizoitler ile dolu halde. HE x 400.

Histolojik kesitlerde makrokistler, en dışta kalın sekonder bir kist duvarıyla çevrilmişti. Kist duvarının iç kenarında yuvarlak ya da oval şekilli metrositler mevcuttu. Kistlerin belirgin septumlarla ayrılmış kompartmanları, periferde çok sayıda bradizoitler ile doluydu. Kistlerin orta kısımlarının genelde

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

Tablo 2. Keçilerin farklı organlarında tripsin tekniği ve histolojik muayene metotları ile tespit edilen *Sarcocystis* mikrokistlerinin yaş gruplarına göre dağılımları

Yaş	Özefagus		Diyafram		Kalp		Dil		İskelet Kasları	
	T	H	T	H	T	H	T	H	T	H
0-6 ay (%)	6/25* (24)	6/25* (24)	5/25 (20)	6/25 (24)	4/25 (16)	6/25 (24)	5/25 (20)	8/25 (32)	0/8 (0.0)	1/8 (12.5)
6 ay-1 yaş (%)	25/25 (100)	25/25 (100)	25/25 (100)	25/25 (100)	25/25 (100)	25/25 (100)	13/15 (86.6)	15/15 (100)	3/3 (100)	3/3 (100)
1-2 yaş (%)	25/25 (100)	25/25 (100)	25/25 (100)	25/25 (100)	25/25 (100)	25/25 (100)	9/9 (100)	9/9 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)
2 yaş üstü (%)	25/25 (100)	25/25 (100)	25/25 (100)	25/25 (100)	25/25 (100)	25/25 (100)	14/14 (100)	14/14 (100)	2/2 (100)	2/2 (100)
TOPLAM (%)	81/100 (81)	81/100 (81)	80/100 (80)	81/100 (81)	78/100 (78)	81/100 (81)	41/63 (65.1)	46/63 (73)	6/14 (42.9)	7/14 (50)

T=Tripsin tekniği, H=Histolojik muayene, * x/n=Pozitif bulunan/Muayene edilen.

Tablo 3. *Sarcocystis* mikrokistlerinin yaş gruplarına göre dağılımı.

	Yaş Grupları				
Tür	0-6 ay (%)	6 ay-1 yaş (%)	1-2 yaş (%)	2 yaş üstü (%)	TOPLAM (%)
S. capracanis	4 (16)	7 (28)	1 (4)	2 (8)	14 (14)
S.capracanis+S.hircicanis	2 (8)	18 (72)	24 (96)	23 (92)	67 (67)
Toplam (%)	6/25 (24)	25/25 (100)	25/25 (100)	25/25 (100)	81/100 (81)

Tablo 4. *Sarcocystis* mikrokistlerinin cinsiyetlere göre dağılımı.

	Yaş Grupları				
Cinsiyet	0-6 ay (%)	6 ay-1 yaş (%)	1-2 yaş (%)	2 yaş üstü (%)	TOPLAM (%)
Dişi	4/16 (25)	15/15 (100)	23/23 (100)	25/25 (100)	67 (79)
Erkek	2/9 (22.2)	10/10 (100)	2/2 (100)	0 (0)	14 (21)
Toplam (%)	6/25 (24)	25/25 (100)	25/25 (100)	25/25 (100)	81/100 (81)

boş olduğu gözlendi (Şekil 1). Makrokistleri çevreleyen kas tellerinde dejenerasyon veya yangısal bir reaksiyon görülmedi.

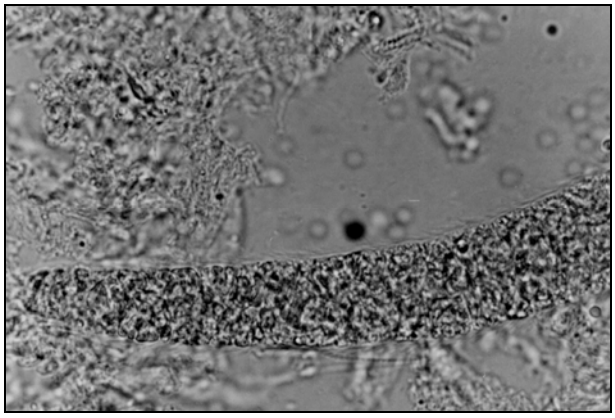
İncelenen 100 keçinin 81 (% 81)'inde *Sarcocystis* mikrokistleri saptandı (Tablo 2). Ancak iç organ örnekleri de muayene edilen 60 keçide sarkokistlerin şizont formlarına rastlanmadı. Mikrokist görülmeyen 19 (% 19) keçi, 0-6 ay yaş grubundaydı. Kas kesitlerinde mikrokistler, en erken bir aylık bir oğlakta gözlendi. 0-6 ay yaş grubu ile diğer yaş gruplarındaki keçiler arasında, farklı kaslardaki mikrokistlerin oranları arasındaki farklar istatistik-sel olarak önemliydi ($p<0.001$). Ayrıca 0-6 ay yaş grubunda, bazı kaslarda iki farklı muayene metodu ile tespit edilen mikrokistlerin oranları arasında da farklar mevcuttu. Ancak, diğer yaş gruplarındaki keçilerin tüm kaslarında, 6 ay-1 yaş grubunda dil hariç, iki farklı muayene metodu ile saptanan mikrokistlerin oranları benzerdi ($p>0.05$).

Kist duvar yapılarına göre; saç benzeri uzantılara sahip ince duvarlı mikrokistler, *S. hircicanis*'in (Şekil 2, 3), radyal çizgili ve kalın duvarlı mikrokistler de *S.capracanis'in* (Şekil 4, 5) morfolojik özelliklerine sahipti.

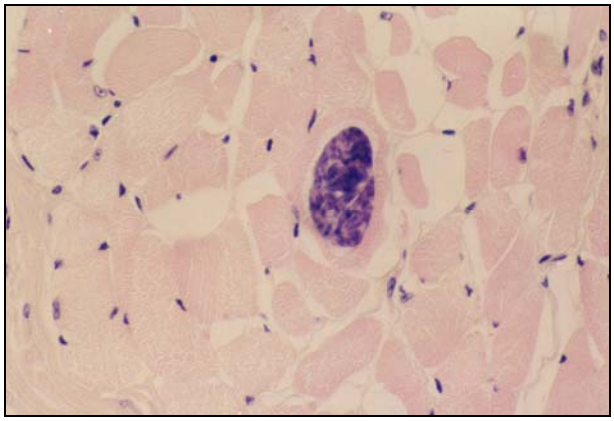
Kas örneklerinde en çok *S.capracanis*'e rastlandı. Keçilerin 14 (% 14) adedinde *S. capracanis*'e tek başına rastlanırken, 67 (% 67) keçide *S. capracanis* ve *S. hircicanis* birlikte bulundu (Tablo 3). Miks enfeksiyon görülen keçilerden birinde *S. hircicanis* mikrokistlerinin, *S. capracanis*'ten daha fazla olduğu gözlendi. Diğer keçilerde ise, genel olarak *S. hircicanis* mikrokistlerinin sayısı birkaç adet ile sınırlıydı.

Sarcocystis mikrokistlerinin cinsiyetlere göre dağılımları Tablo 4'de verilmiştir. Altı aylığa kadarki dişilerde mikrokistlere erkeklerden biraz daha yüksek oranda rastlanırken, 6 aylıktan büyük keçilerde, mikrokistlerin cinsiyetlere göre dağılım yüzdelerinde herhangi bir farklılık saptanmadı ($p>0.05$) .

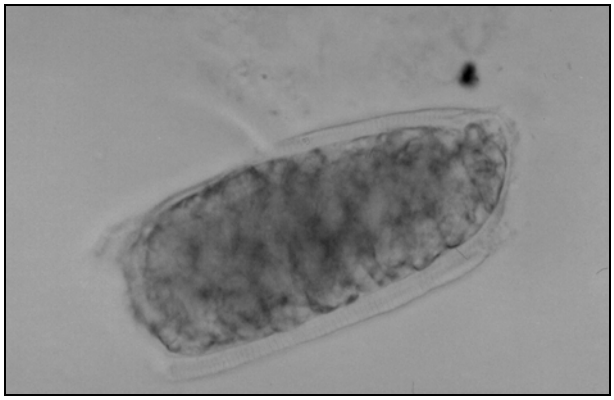
This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com



Şekil 2. Kalp kasında saç benzeri çıkıntıları olan ince kist duvarlı *S. hircicanis* mikrokisti. Nativ x 400.

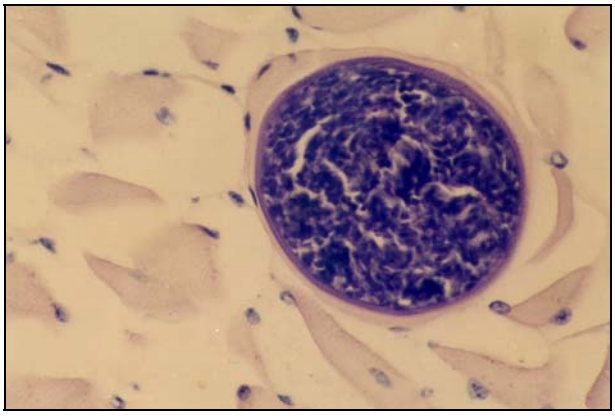


Şekil 3. Özefagus. Saç benzeri uzantılara sahip ince duvarlı *S. hircicanis* mikrokisti. HE x 200.

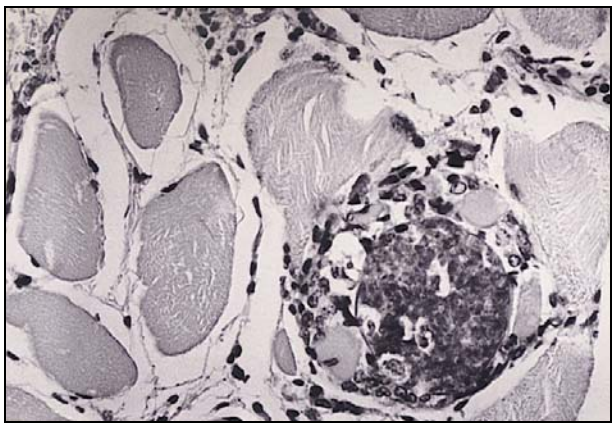


Şekil 4. Diyafram. Radyal çizgili kalın kist duvarına sahip olan *S. capracanis* mikrokisti. Nativ x 400.

Histolojik muayenede mikrokistli kas tellerinde genel olarak patolojik bir değişiklik ya da yangısal bir reaksiyon görülmedi. Ancak dejenere ya da parçalanmış kistlerin içlerinde ve çevrelerinde, aralarında az ya da çok sayıda nötrofil lökositlerin de bulunduğu yoğun mononüklear hücre infiltrasyonları gözlendi (Şekil 6). Ayrıca dejenere kistlere sahip bazı kas tellerinde, sarkoplazma çizgili görünümünü kaybetmiş ve homojen, kaba bir kitle halini almıştı. Kas örneklerinin çoğunda,



Şekil 5. Özefagus. Radyal çizgili kalın duvarlı *S.capracanis* mikrokisti. HE x 400.



Şekil 6. Özefagus.Yangı hücreleri ile infiltre olmuş dejenere *Sarcocystis* mikrokisti. HEx 200.

kist yoğunluğu ile ilgili olmaksızın çoğunlukla perivaskuler interstisyel hafif mononüklear hücre infiltrasyonları mevcuttu.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Yapılan araştırmalar (7, 8), dünyanın en gelişmiş ülkelerinde bile *Sarcocystis* enfeksiyonlarının keçilerde yaygın olduğunu göstermiştir.

Çeşitli ülkelerde yapılan çalışmalarda; *Sarcocystis moulei*'ye Ürdün'de % 11.7 (1), Suudi Arabistan'da % 18 (2), Irak'ta % 33.6-34 (4, 17) oranlarında rastlanmıştır. Türkiye'de, Sayın ve Özer (27), *Sarcocystis* makrokistlerinin Elazığ'daki keçilerde 1980 yılında % 7.01, 1981 yılında ise % 19.06 oranında tespit edildiğini belirtmişlerdir. Erber ve Göksu (11), Ankara'da yaptıkları çalışmada, Ankara keçilerinde % 44.8, kıl keçilerinde % 7.2, Taşçı ve ark. (35) da Van'daki keçilerde % 25 oranında *Sarcocystis* makrokistlerine rastladıklarını bildirmişlerdir. Bu çalışmada histolojik olarak duvar morfolojilerinin, *S. moulei*'nin Heydorn ve Kirmsse (14) tarafından bildirilen özelliklerine uyduğu belirlenen makrokistler, % 15 oranında tespit edilmiştir.

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

Makrokistlerin, çoğunlukla ergin keçilerde görüldüğü bildirilmiştir (1, 4, 27, 35). Kuzey Irak'ta, Barham ve ark. (4), makrokistleri bir yaşındaki keçilerde % 4, üç yaşındakilerde % 48 ve altı yaşındakilerde % 83 oranında bulmuşlardır. Sayın ve Özer (27), makrokistlerin iki yaşındaki keçilerde % 2.15, üç yaşındakilerde % 5.69, dört yaşındakilerde % 6.52, beş yaşındakilerde % 0.37 oranında bulunduğunu ve sekiz yaşındakilerde makrokiste rastlamadıklarını bildirmişlerdir. Bu çalışmada saptanan 15 makrokistin sekizi iki yaşın üzerindeki, beşi 1-2 yaş arasındaki ve ikisi de 6 ay- 1 yaş arasındaki keçilerde görüldü. Diğer çalışmalarda (4, 27) da saptandığı gibi keçilerin makrokistlerle enfekte olma oranının yaşla birlikte arttığı ve en yüksek enfeksiyon oranının iki yaşın üstündekilerde görüldüğü tespit edildi. Ayrıca bazı araştırıcıların (2, 4, 17, 27) bulgularına benzer olarak makrokistlerin daha çok özefagusta yerleştikleri dikkati çekti.

Sayın ve Özer (27), Elazığ'da, 1980 yılında 50 erkek keçinin % 1.80'inde, 303 dişi keçinin % 6.16'sında, 1981 yılında 114 erkek keçinin % 5.20'sinde ve 640 dişi keçinin % 12.94'ünde makroskobik kist bulmuşlardır. Bu çalışmada makrokistler, altı aylıktan büyük 12 erkek keçinin birinde (% 8.33) ve 63 dişi keçinin 14'ünde (% 22.22) tespit edildi. Sayın ve Özer (27)'in bulgularına benzer olarak dişi keçilerde erkek keçilerden daha yüksek oranda makrokist gözlendi.

Türkiye'de (11, 20, 25, 27) ve diğer ülkelerde (1, 4, 8, 17), keçilerde mikroskobik kist oluşturan *Sarcocystis* türlerinin, makroskobik kist oluşturan türlerden daha yaygın olarak görüldüğü bildirilmektedir. Keçilerde görülen *Sarcocystis* mikrokistlerine; Ankara (11, 25), İstanbul (20) ve Elazığ'da (27) % 100, Van'da (35) % 98 oranlarında rastlanmıştır. Bu çalışmada da yapılan çalışmaların sonuçlarına benzer olarak İzmir ilindeki keçilerde mikrokistler ile enfeksiyon oranı, % 81 olarak saptandı.

Keçilerde yapılan çalışmalarda; *Sarcocystis* mikrokistlerine daha çok özefagus kaslarında (1, 16, 23, 26, 31, 32), diyafram kaslarında (29, 36) veya dil kaslarında (7, 30) rastlandığı belirtilmiştir. Bu çalışmada tripsin tekniği ile mikrokistlere en çok özefagus kaslarında rastlandı. Histolojik muayenede ise mikrokistlerin özefagus, diyafram ve kalpte eşit oranlarda yaygın olduğu gözlendi. Bu sonuç, Woldemeskel ve Gebreab'ın (38) bulgularıyla da uyuşmaktadır.

Keçilerde mikroskobik kist oluşturan *Sarcocystis* türlerinden *S. capracanis*'e dünyanın pek çok yerinde rastlandığı, *S. hircicanis*'in ise yalnız Almanya, Hindistan, Ürdün ve Türkiye'de bulunduğu bildirilmiştir (1, 8, 28-30, 34). Yapılan çalışmalarda (1, 5, 12, 26, 32) keçilerde, bu iki *Sarcocystis* türü ile tek ya da miks enfeksiyonlar gözlenmiştir. Taşçı ve ark. (35), Van mezbahasında kesilen keçilerdeki mikroskobik kistlerin *S. capracanis ve S. tenella* olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada, *S. capracanis*'e tek ya da *S. hircicanis* ile birlikte rastlandı. Miks enfeksiyonların çoğunda *S. hircicanis* mikrokistlerinin sayısı, genelde birkaç adet ile sınırlıydı ve sadece bir keçinin (% 1.5) özefagus, diyafram, kalp ve dil örneklerinde, *S hircicanis mikrokistlerine*, *S. capracanis*'inkilerden daha fazla sayıda tesadüf edildi. Bu durum Dubey ve ark. (8)'nın bulguları ile de uyuşmaktadır.

Hindistan'da yapılan çalışmalarda; altı aylığa kadar olan oğlaklarda *Sarcocystis* mikrokistlerinin yaygınlığının % 15.38-57.41 arasında değiştiği ve kist sayısının yaşla birlikte önemli oranda arttığı bildirilmiştir (23, 28, 31, 32, 34, 36). Bu çalışmada da benzer olarak enfeksiyon oranının yaşla birlikte arttığı, 0-6 aylık yaş grubundaki 25 oğlağın % 24'ünün, altı aylığın üstündeki keçilerin ise tümünün (% 100) mikrokistler ile enfekte olduğu tespit edildi.

Bu çalışmada, kaslarda metrositleri kapsayan genç *Sarcocystis* mikrokistlerine, en erken bir aylık bir oğlakta rastlanmıştır. Deneysel çalışmalarda metrositli kistler, en erken inokülasyondan sonraki 35. (9) ve 41. (13, 22) günlerde görüldüğünden, bu çalışmada bir aylık oğlakta görülen genç kistler, konjenital bulaşmayı ya da doğumun ilk günlerinden itibaren sporokist alımının başladığını gösterebilir. Benzer şekilde, Romanya'da Baba ve ark. (3), transplasental bulaşmayla ilgili olarak bir haftalık oğlakta gracilis kasında erken invaziv formların görüldüğünü bildirmişlerdir. Aynı şekilde Avustralya'da ölü doğan bir Saanen keçisinin beyninde de *Sarcocystis* şizontları tespit edilmiştir (19).

Mikrokist prevalansının, erkek ve dişilerde birbirine yakın olduğu bildirilmiştir (28, 32). Singip ve ark. (32), Hindistan'da erkek keçilerin % 69.18'inde ve dişi keçilerin % 61.25'inde *S. capracanis* enfeksiyonu tespit etmişlerdir. Bir başka çalışmada, Shankar ve Bhatia (28) erkek keçilerin % 73'ünün ve dişi keçilerin % 73.81'inin *Sarcocystis* türleri ile enfekte olduğunu görmüşler ve her iki cinsiyet arasında prevalans farkı olmadığını bildir-

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

mişlerdir. Bu çalışmada da mikrokist prevalansının cinsiyete bağlı olmadığı görüldü.

Sarcocystis enfeksiyonlarında, kas tellerinde yerleşen kistler çevresinde genelde yangısal bir reaksiyonun görülmediği, ancak kistlerin yırtılması halinde güçlü bir immun cevaba neden olan toksik maddelerin salınabileceği bildirilmiştir (6, 8, 21). Bu çalışmada da şiddetli derecede kist yoğunluğuna sahip kas örneklerinde bile kanama, nekroz ve kistlerde dejenerasyon olmadıkça, kas tellerinde dejeneratif değişikliklere rastlanmadı.

Sarcocystis mikrokistleri ile enfeksiyon oranı; keçilerde, Dubey ve Livingston (7) tarafından histolojik kesitlerde % 27.8 ve tripsin tekniği ile % 60.8, Taşçı ve ark. (35) tarafından histolojik kesitlerde % 90 ve tripsin tekniği ile % 98 olarak bildirilmiştir. Aynı muayene metodlarının kullanıldığı bu araştırmada ise iki muayene metodu arasında duyarlılık açısından; 0-6 aylık yaş grubundakiler hariç, diğer yaş gruplarında istatistiksel olarak önemli bir fark ($p>0.05$) bulunmadı. 0-6 aylık yaş grubundaki oğlakların kaslarında histolojik muayene ile tespit edilen mikrokist oranının, tripsin tekniği ile tespit edilenden biraz daha yüksek olması; histolojik muayenenin kasların birçok farklı noktalarından kesit alınmasına imkan vermesine ve muhtemelen bu yaş grubunda az sayıda olan mikrokistlerin, kesit alınan kas kısımlarına tesadüf etmiş olmasına bağlanabilir.

Sonuç olarak; bu çalışma ile İzmir ilinde keçilerde patojen *Sarcocystis* türleri ile enfeksiyon oranı, 0-6 aylık yaş grubunda % 24 ve altı aylığın üstündekilerde % 100 olarak saptanmıştır. Bu bulgu, çevrenin belirtilen *Sarcocystis* türlerinin sporokistleri ile yoğun şekilde kontamine olduğunu ve sporokist alımının genç yaşlardan itibaren başladığını göstermektedir. Bu sebeple ara konakçı-son konakçı enfeksiyon zincirinin kırılması için sürü sahiplerinin son konakçı kedi ve köpeklere çiğ et yedirilmemesi konusunda eğitilmeleri ve mezbaha artıklarının imhası büyük önem taşımaktadır.

TEŞEKKÜR

Çalışmada istatistik analizlerde yardımcı olan Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü İstatistik Ana Bilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Zahide KOCABAŞ'a teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. **Abo-Shehada, M.N.** (1996) *Age variations in the prevalence of sarcocystosis in sheep and goats from northern and central Jordan.* Preventive Vet. Med., 27 (3-4):135-140.
2. **Al-Hoot, A.S., Al-Qureishy, S.A., Al-Rashid, K., Bashtar, A.R.** (2005) *Microscopic study on Sarcocystis moulei from sheep and goats in Saudi Arabia*. J. Egypt Soc. Parasitol., 35 (1): 295-312.
3. **Baba, A.I., Rotaru, O., Panagiotis, T., Crisan, M.** (1990) *Study of the lesions of sarcocystosis in goats.* Buletinul Institutului Agronomic Cluj-Napoca. Seria Zootehnie si Medicina Veterinara, 44:115-117.
4. **Barham, M., Stützer, H., Karanis, P., Latif, B. M., Neiss, W. F.** (2005) *Seasonal variation in* Sarcocystis *species infections in goats in northern Iraq.* Parasitol.,130 (2): 151-156.
5. **Chauhan, P.P.S., Agrawal, R.D.** (1997) *Prevalence of Sarcocystis in goats (Capra hircus) from Western Uttar Pradesh.* Indian Vet. J., 74: 1065-1066.
6. **Dey, S., Gupta, S.L., Singh, R.P., Verma, P.C.** (1993) *Clinico-pathological changes in goats experimentally infected with Sarcocystis capracanis.* Indian J. Vet. Med., 13 (1): 5-8.
7. **Dubey, J.P**., **Livingston, C.W. Jr**. (1986) *Sarcocystis capracanis and Toxoplasma gondii infections in range goats from Texas.* Am. J. Vet. Res., 47 (3): 523-524.
8. **Dubey, J.P., Speer, C.A., Fayer, R.** (1989) *Sarcocystosis of Animals and Man.* CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida.
9. **Dubey, J.P., Speer, C.A., Callis, G., Blixt, J.A.** (1982) *Development of sheep-canid cycle of Sarcocystis tenella.* Can. J. Zool., 60: 2464-2477.
10. **Erber, M.** (1977) *Möglichkeiten des Nachweisses und der Differenzierung von Zwei Sarcocystis-Arten des Schweines.* Berl. Münch.Tierarztl. Wochenschr., 90: 480-482.
11. **Erber, M., Göksu, K.** (1984) *Sarcosporidia in goats in Turkey and the differentiation of species.* 21-29. In: Markl, H., Bittner, A.(Eds): Recent German Research on Problems of Parasitology, Animal Health and Animal Breeding in the Tropics and Subtropics. George Hauser, Metzingen.
12. **Gebreab, F.** (1984) *Incidence of sarcosporidiosis in Ethiopian sheep and goats: A preliminary survey at the Debre Zeit abattoir.* Sinet, 7 (2): 83-87.
13. **Heydorn, A.O., Gestrich, R.** (1976) *Beitrage zum Lebenszyklus der Sarcosporidien. VII. Entwicklungsstadien von Sarcocystis ovicanis im Schaf.* Berl. Münch. Tierarztl. Wschr., 89: 1-6.
14. **Heydorn, A.O., Kirmsse, P.** (1996) *Isolation und experimentelle Ubertragung von Sarcocystis moulei Neveu-Lemaire, 1912.* Berl. Münch. Tierarztl. Wschr.,109 (11-12): 440-445.
15. **Kesici, T., Kocabaş, Z**. (1998) *Biyoistatistik.* Ankara Üniv. Basımevi, Ankara Üniv. Eczacılık Fak. Yay. No. 79.
16. **Kudi, A.C., Aganga, A.O., Ogbogu, V.C., Umoh, J.U.** (1991) *Prevalence of Sarcocystis species in*

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

sheep and goats in Northern Nigeria. Rev. Elev. Méd. Vét. Pays Trop., 44 (1): 59-60.

17. **Latif, B.M.A., Al-Delemi, J.K., Mohammed, B.S., Al-Bayati, S.M., Al-Amiry, A.M.** (1999) *Prevalence of Sarcocystis spp. in meat-producing animals in Iraq.* Vet. Parasitol., 84 (1-2): 85-90.
18. **Levine, N.D.** (1985) *Veterinary Protozoology.* Iowa State Univ. Press, Ames, Iowa.
19. **Mackie, J.T., Dubey, J.P.** (1996) *Congenital sarcocystosis in a Saanen goat.* J. Parasitol., 82 (2): 350-351.
20. **Maskar, Ü., Özder, M., Dikmen, S.** (1971) *Çeşitli kasaplık hayvan türleri ile et müstahzaratlarında Sarkosporidi bakımından histolojik araştırma.* Mikrobiol. Derg., 24 (3-4): 86-104.
21. **Mohanty, B., Misra, S.C., Rao, A.T.** (1995) *Pathology of Sarcocystis infection in naturally infected cattle, buffaloes, sheep and goats.* Indian Vet. J., 72 (6): 569-571.
22. **O'donoghue, P.J., Ford, G.E.** (1984) *The asexual pre-cyst development of Sarcocystis tenella in experimentally infected spesific-pathogen-free lambs.* International Journal for Parasitology, 14 (4): 345-355.
23. **Pathak, K.M.L., Raisinghani, P.M., Bhan, A.K.** (1992) *Prevalence of Sarcocystis capracanis in goats in Rajasthan.* Indian Vet. J., 69 (3): 286.
24. **Raikov, R., Kostov, R., Veleva, A., Velchava, R.** (1989) *Frequency of sarcocystosis among ruminants in NE Bulgaria.* Veterinarna Sbirka, 87 (10): 39-40.
25. **Reztlaff, N.** (1972) *Über das vorkommen von Sarkosporidien bei schlachtschafen und schlachtziegen in der Türkei.* Schlacht-Viehhof-Ztg. Tierarztl., 72 (6): 192-196.
26. **Saha, A.K., Ghosh, D.** (1992) *Prevalence of Sarcocystis in Black Bengal goats in Tripura.* Indian Vet. J., 69 (1): 82-83.
27. **Sayın, F., Özer, E.** (1984) *Doğu Anadolu'da keçilerde sarcosporidiosisin yayılışı.* Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg., 31 (2): 316-323.
28. **Shankar, D., Bhatia, B.B.** (1993) *Sarcocystis infection in goats in Uttar Pradesh.* Indian J. Anim. Sci., 63 (3): 284-287.
29. **Sharma, R.K., Shah, H.L.** (1992) *Occurrence of Sarcocystis hircicanis in the goat.* Indian J. Anim. Sci., 62 (6): 561-563.
30. **Shastri, U.V.** (1990) *Sarcocystis infection in goats in Maharashtra.* Indian Vet.J., 67: 70-71.
31. **Singh, K.P., Agrawal, M.C., Shah, H.L.** (1990) *Prevalence of sarcocysts of Sarcocystis capracanis in oesophagus and tail muscles of naturally infected goats.* Vet. Parasitol., 36 (1-2): 153-155.
32. **Singip, L.A.L., Raisinghani, P.M., Pathak, K.M.L., Kumar, D., Manohar, G.S., Bhan, A.K.** (1992) *Epidemiology of Sarcocystis capracanis in goats at Bikaner, Rajasthan, India.* Indian J. Anim. Sci., 62 (11): 1044-1045.
33. **Soulsby, E.J.L.** (1982) *Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals.* 7th ed. London, Bailliére Tindall. pp 670-692.
34. **Srivastava, P.S., Kumar, A., Sinha, S.R.P., Sinha, A.K.** (1991) *Morphological differentiation of caprine Sarcocystis species: Evidence of occurrence of Sarcocystis hircicanis in India.* Acta Protozool., 30 (1): 61-62.
35. **Taşçı, S., Değer, S., Ağaoğlu, Z.** (1990) *Van mezbahasında kesilen keçilerde sarcosporidiosisin yayılışı.* Y.Y.Ü.Vet. Fak. Derg., 1 (1): 109-125.
36. **Wadajkar, S.V., Shastri, U.V., Narladkar, B.W.** (1994) *Prevalence of caprine Sarcocystis spp. in Marathwada region.* J. Vet. Parasitol., 8 (1): 43-46.
37. **Wang, M., Liu, H., Jia, W.F.** (1996) *A survey of Sarcocystis infection of animal carcasses in Beijing.* Chinese J. Vet. Med., 22 (6): 17-19.
38. **Woldemeskel, M., Gebreab, F.** (1996) *Prevalence of sarcocysts in livestock of northwest Ethiopia.* Zentralbl. Veterinarmed. B, 43 (1): 55-58.

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

Bornova Vet. Kont. Araşt.
Enst. Derg., 29 (43): 25-29, 2007

ADANA YÖRESİNDE EVCİL GÜVERCİNLERDE *HAEMOPROTEUS COLUMBAE*'NİN YAYGINLIĞI

THE PREVALENCE OF *HAEMOPROTEUS COLUMBAE* IN DOMESTIC PIGEONS IN THE PROVINCE OF ADANA

İbrahim ÖZ[1] Nevin TURUT[2]

Geliş Tarihi (Received): 27.12.2006 Kabul Tarihi (Accepted): 06.09.2007

ÖZET

Bu çalışma, Adana İlinde 1995-1996 yılları arasında 20 güvercin kümesinde 138 evcil güvercin (*Columba livia domestica)* üzerinde gerçekleştirildi. 138 evcil güvercinin 117 (% 84.78)'sinin sürme kan frotilerinde *Haemoproteus columbae* gametositleri tespit edildi. Bu parazitin yaygınlığı, yetişkinlerde % 89.02 (73/82), yavrularda % 78.57 (44/56) olarak bulundu. Parazitemi oranı % 1-10 arasında kaydedildi. Tüm kümeslerden toplanan sinekler, *Haemoproteus columbae*'nin başlıca vektörü olan güvercin sineği, *Pseudolynchia canariensis* olarak identifiye edildi. Bu çalışma, Adana yöresinde evcil güvercinlerde *Haemoproteus columbae* genel prevalansının yüksek ve güvercin kümeslerinde *Pseudolynchia canariensis*'in yaygın olduğunu göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Evcil güvercin, *Haemoproteus columbae, Pseudolynchia canariensis*

SUMMARY

This study was carried out on 138 domestic pigeons (*Columba livia domestica*) from 20 aviaries between 1995 and 1996. In the study, 117 out of (84.78 %) 138 domestic pigeons had *Haemoproteus columbae* gametocytes in their thin blood smears. The prevalence of this parasite was found as 89.02 % (73/82) in the adults, and 78.57 % (44/56) in the young birds (squaps). Infection rate was recorded from 1 to 10 %. Louse flies collected from all aviaries were identified as *Pseudolynchia canariensis,* main vector of *H. columbae*. The study indicated that the overall prevalence of *H. columbae* was high in domestic pigeons, and *P. canariensis* was prevalent in the pigeon aviaries in the province of Adana**.**

Key Words: Domestic pigeon, *Haemoproteus columbae, Pseudolynchia canariensis*

GİRİŞ

Haemoproteus türleri, avian Haemosporidian (*Plasmodiidae*) parazitlerdir (7). *Haemoproteus columbae* tropikal ve subtropikal bölgelerdeki güvercinlerde yaygın olarak görülmektedir (38). Parazitin doğal konakçıları evcil güvercinler (*Columba livia domestica*), yabani güvercinler, uzun kuyruklu kumrular (*Zenaida macroura*), kaplumbağa kumrusu ve diğer kuş türleridir (37).

Parazitin pigment granülleri içeren halter şeklindeki gametositleri, konakçı eritrositinin nükleusunu kuşatmaktadır. Şizogoni formu, iç organların (özellikle akciğer) endotel hücrelerinde görülür. Aseksüel üreme (sporogoni) ise kan emici vektör sineklerde tamamlanmaktadır. Vektör olarak hippoboscid ve bazen de *Culicoides* türü sinekler rol almaktadır (4, 11, 12, 37, 38). Halk arasında güvercin sineği olarak adlandırılan *Pseudolynchia canariensis*, *H. columbae*'nin başlıca vektörü olarak bilinmektedir (12).

Haemoproteus türlerinin genellikle iyi huylu parazitler olduğu ve konakçıları üzerinde çok az zararlı etkilerinin olduğu (37) bildirilmişse de, çeşitli kanatlı türlerinde patojen etki gösterdiğine dair literatürler de bulunmaktadır (5, 18, 19, 26, 32, 36). İştahsızlık, huzursuzluk ve anemi başlıca klinik bulgulardır. Postmortem muayenede karaciğer ve dalak büyümüş ve koyu renkli olarak görülür (16, 37). Güvercinlerde, ancak yoğun stres altında kalma durumunda hastalık görülebilmektedir (9, 41). Göçmen kuşlarda *Haemoproteus spp.* yüksek oranlarda bulunduğunda, kuşların vücutlarındaki yağ oranında azalmaya, dolayısıyla göç sırasında performans düşüklüğüne neden olmaktadır (40).

Bu çalışma, Adana yöresinde *H. columbae*'nin yaygınlığını tespit etmek amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL VE METOT

Bu çalışma, 1995-1996 yıllarında sonbahar aylarında (Eylül-Kasım) Adana'nın Seyhan ve Yü-

[1] Dr.Uzm.Vet.Hekim, Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, İZMİR
[2] Vet. Hekim, Adana Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, ADANA

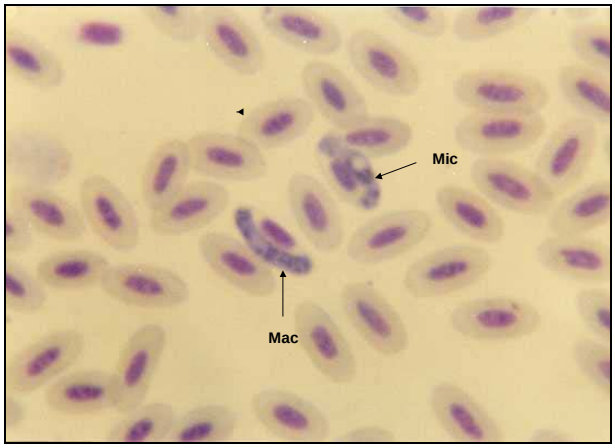
This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

reğir ilçelerinde saha çalışması şeklinde toplam 20 güvercin kümesine ait 138 güvercin üzerinde yürütülmüştür. Çalışmada, öncelikle kümeste güvercin sineği görülüp görülmediği konusunda bilgi alınmış, ardından kuluçkalıklarda ve hayvanların göğüs tüyleri arasında vektör sinek aranmıştır. Daha sonra kümes populasyonunun % 10'unu geçmemek üzere, hem anaç hem yavru güvercinlerin kanat venalarından sürme kan frotileri hazırlanmıştır. Ayrıca, teşhis amacıyla 1995-1996 yılları arasında laboratuvara getirilen 8 adet güvercin de çalışmaya dahil edilmiş, bunlardan hasta olan birisine nekropsi yapılarak, akciğer, karaciğer, dalak ve böbrek gibi organlardan frotiler hazırlanmıştır.

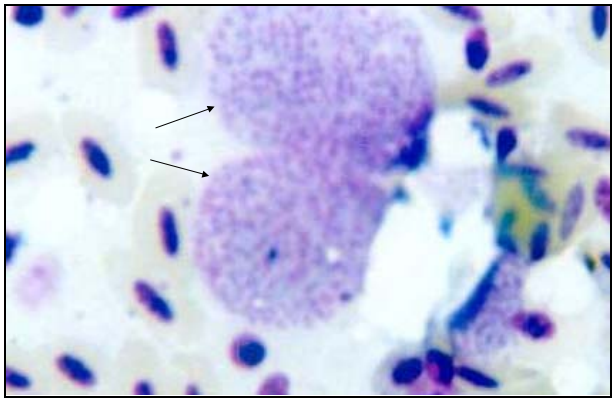
Sürme kan frotileri havada kurutularak, metil alkolde 1 dakika tespit edilmiş ve sonra % 5'lik Giemsa solüsyonunda (pH: 7.2) 10 dakika boyanmıştır. İnceleme mikroskobu altında önce X400 ve X1000 büyültme ile en az 10 dakika incelenmiş ve 4000 eritrosit içerisinde bulunan parazit (gametosit) sayısı kaydedilmiştir (22). Tür identifikasyonu için belirli teşhis kriterleri (11, 12) kullanılmıştır. Hippoboscid sineklerin identifikasyonu, stereomikroskop altında ve yine belirli teşhis anahtarları (13, 14, 30) kullanılarak yapılmıştır.

BULGULAR

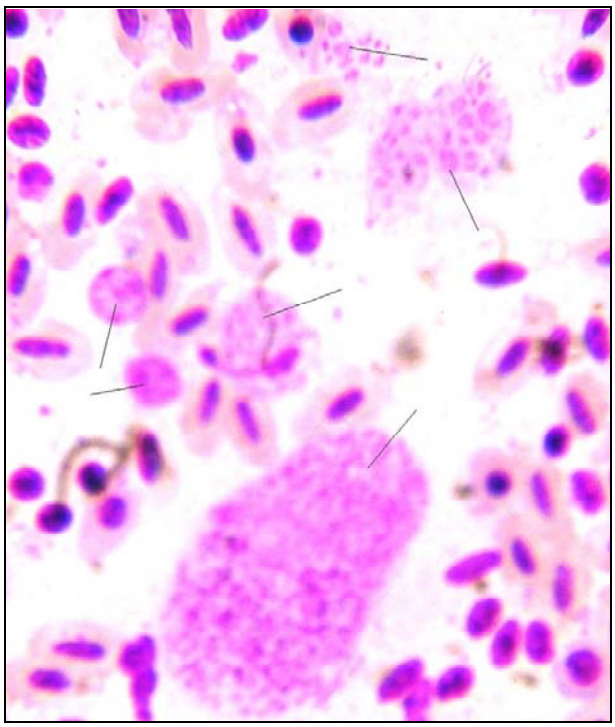
Bu çalışmada toplam 138 güvercine ait kan frotisi örneğinin 117 (% 84.78)' sinde *H. columbae* gametositleri tespit edilmiştir (Şekil 1). Yaygınlık oranı, yavrularda % 78.57 (44/56) ve anaçlarda % 89.02 (73/82) olarak, parazitemi oranı ise anaçlarda % 5-10, yavrularda % 1-5 düzeyinde saptanmıştır. Nekropsi yapılan güvercine ait organlardan yalnızca akciğere ait frotilerde parazitin şizont formları tespit edilmiştir (Şekil 2, 3).



Şekil 1. Kan frotisinde *Haemoproteus columbae* gametositleri, Giemsa boyama, 1000X (Orijinal)



Şekil 2. Akciğer endotel hücrelerinde parazitin şizont formu, Giemsa boyama, 1000X (Orijinal)



Şekil 3. Akciğer endotel hücrelerinde şizontlar, Giemsa boyama, 1000X (Orijinal)

Güvercin kümeslerinde yapılan sinek yoklamalarında, bütün kümeslerde vektör sineklere rastlanmış ve toplanmış olan örneklerin hepsi *Pseudolynchia canariensis* olarak identifiye edilmiştir (Şekil 4, 5).

Teşhis amacıyla laboratuvara getirilen 8 güvercinin tümünde *H. columbae* gametositleri, 26.09.1996 tarihinde laboratuvara getirilen ve nekropsisi yapılan güvercinde parazitin gametosit formlarının yanunda şizont formları da tespit edilmiştir (Şekil 2, 3). Dış parazit yoklamasında üzerinde bir adet vektör sinek *Pseudolynchia canariensis* bulunan bu güvercinde % 10'un üzerinde eritrosit içi parazitemi kaydedilmiştir.

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

Şekil 4. *Pseudolynchia canariensis*'in dorsalden görünüşü (Orijinal) 10X

Şekil 5. *Pseudolynchia canariensis*'in ventralden görünüşü (Orijinal) 10X

TARTIŞMA VE SONUÇ

Haemoproteus türleri, kanatlıların yaygın olarak görülen ve patojen olmayan parazitleri olarak bilinirse de, (6, 37), değişik türlerde patojenite gösterdiklerine dair literatür bilgileri bulunmaktadır (5, 15, 24, 26, 29, 31, 32). Markus ve Oosthuizen (32), parazitin güvercinler üzerinde zararlı etkileri olduğunu belirtmiştir. *H. columbae*'nin patojenite gösterdiğine dair en yeni bilgi Earle ve ark.(18) tarafından verilmiştir. Bennett ve ark.(9), *Haemoproteus*'ların kanatlılar üzerindeki olumsuz etkisinin, ancak parazit yoğunluğunun yüksek olması durumunda ve maksimum stress faktörleri altında gerçekleşebileceğini bildirmişlerdir. Hafif stres, parazitin kanatlılarda klinik enfeksiyon oluşturması için yeterli değildir. Bunun nedenlerinden biri parazitin kanatlı eritrositlerinde çoğalmamasıdır (37). Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan bir epidemiyolojik çalışmada; vektör *Pseudolynchia canariensis*'in mevsimsel dağılımı ile güvercinlerde *Haemoproteus columbae*'nin yaygınlığı arasında paralellik tespit edilmiş; en yüksek prevalans sonbahar ve kış aylarında, en düşük prevalans ise ilkbaharda kaydedilmiştir (27). Mısır'da yapılan bir çalışmada, *Haemoproteus columbae*'nin vektör *Pseudolynchia canariensis*'te gelişmesi için en uygun çevre ısısının 25ºC olduğu, 16ºC'den düşük ısıların sporozoitlerin gelişmesini geciktirdiği, 30ºC'den yüksek ısıların da enfekte vektör sayısında azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir (35). Güvercin yavrularının *Haemoproteus columbae* enfeksiyonuna çok duyarlı olduğu (1), vektör sineklerin beslendiği donör güvercinlerdeki parazitemi oranının yüksek yada düşük olma durumuna göre, yavru güvercinlerde enfeksiyonun ağır yada hafif seyrettiği (2) bildirilmiştir.

Çeşitli ülkelerde yapılan çalışmalarda; mikroskobik yoklama ile güvercinlerde; Bolivya'da (10) % 18, Botswana'da (34) % 75, kumrularda, Brezilya'da (3) % 19.3-100, Meksika'da (8) % 90, ABD'de Texas'da (22) % 91, Nebraska'da (24) % 83 oranında yaygınlık kaydedilmiştir.

ELISA ile yapılan bir çalışmada 30 kaya güvercininin 27 (% 90)'sinde *H. columbae* antikorları tespit edilmiş, ancak absorbans değerleri ile parazit yoğunluğu arasında bir korelasyon tespit edilmemiş ve enfekte güvercinlerde de herhangi bir patolojik bulguya rastlanmamıştır (23).

Türkiye'de yapılan çalışmalarda; Köroğlu ve Şimşek (28), Elazığ'da kaya güvercinlerinde % 73.58, Gıcık ve Aslan (21) Ankara yöresinde % 57, Tolgay (39) İzmir Hayvanat Bahçesi'ndeki güvercinlerde % 74 oranında *H. columbae*, Alanya'da kumrularda % 70.6 oranında *H. sacharovi* tespit etmişlerdir. Gülanber ve ark. (25), İstanbul yöresinde evcil güvercinlerde % 43.2 oranında *H. columbae* enfeksiyonu tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

H. columbae'nin başlıca vektörü olarak bilinen *Pseudolynchia canariensis* Ankara (20) ve İstanbul yörelerinde (25, 33) yaygın olarak bildirilmiştir.

Bu çalışmada, çoğunluğu sağlıklı görünen evcil güvercinlerde *H. columbae*'nin genel prevalansı oldukça yüksek (% 84.78) bulunmuştur. Bütün güvercin kümeslerinde ve kuluçkalıklarında güvercin sineğine rastlanmıştır.

Adana yöresi, 36. ve 38. kuzey enlemleri arasında yer almakta ve kuzeyde yüksekliği yer yer 2.000 metreye ulaşan Toros Dağları sahil şeridini Orta Anadolu'dan ayırarak, Akdeniz kıyı şeridine özgü iklim koşullarının oluşmasına neden olmaktadır. Yaz ve sonbahar ayları kurak geçmesine rağmen Seyhan Baraj Gölü, Seyhan ve Ceyhan nehirleri ile yörede yoğun olarak yapılan sulu tarım nedeniyle nisbi nem oranı yükselmektedir. Böylece

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

sonbahar aylarında, hem vektör sinekler hem de parazitin gelişmesi açısından uygun iklim şartları sağlanmış olmaktadır. Bu nedenle çalışmada tespit edilen yüksek prevalans, yörenin iklim koşullarının uygun olması ve dolayısıyla vektör hippoboscid sineklerin yörede yaygın olarak bulunması ile açıklanabilir.

KAYNAKLAR

1. **Adham, F.K., El Moursy, A.A., Hilali, M., Rashdan, N.A.** (1997 a) *Factors affecting transmission of Haemoproteus columbae to Pseudolynchia canariensis.* J. Egypt. Ger. Soc. Zool., 24 (E): 115-122.
2. **Adham, F.K., Hilali, M., El Moursy, A.A., Rashdan, N.A.** (1997 b) *Course of infection of Haemoproteus columbae in Columba livia and Macropygia phasianella.* J. Egypt. Ger. Soc. Zool., 24 (E): 29-36.
3. **Adriano, E.A., Cordeiro, N.S.** (2001) *Prevalence and intensity of Haemoproteus columbae in three species of wild doves from Brazil.* Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 96 (2): 175-178.
4. **Ahmed, F.E., Mohammed, A.H.** (1977) *Schizogony in Haemoproteus columbae.* J. Protozool., 24 (3): 389-393.
5. **Atkinson, C.T., Greiner, E.C., Forrester, D.J.** (1986) *Pre-erythrocytic development and associated host responses to Haemoproteus meleagridis Haemosporina:Haemoproteidae in experimentally infected domestic turkeys*. J. Protozool., 33: 375-381.
6. **Atkinson, C.T, VanRiper, III.** (1991) *Pathogenicity and epizootiology of avian hematozoa: Plasmodium, Leucocytozoon, and Haemoproteus*, 20-48. In: Loye, J. L. and Zuk, M. (Eds.). Bird-parasite interactions; ecology, evolution and behaviour, Oxford University Press, New York.
7. **Bennett, G.F.** (1987) *Companion bird medicine*, Iowa State University Press:120, Ames, USA
8. **Bennett, G.F., Aguirre, A.A., Cook, R.S.** (1991 a) *Blood parasites of some birds from Northeastern Mexico. J.Parasitol*., 77 (1): 38-41.
9. **Bennett, G.F., Caines, J.R., Bishop, M.A.** (1988) *Influence of blood parasites on the body mass of passeriform birds.* J. Wildl. Dis., 24 (2): 339-343.
10. **Bennett, G.F., Garvin, M., Bates, J.M.** (1991 b) *Avian Hematozoa from West Central Bolivia*. J. Parasitol., 77 (2): 207-211.
11. **Bennett, G.F., Peirce, M.A.** (1988) *Morphological form avian Haemoproteidae and an annotated checklist of the genus Haemoproteus Kruse, 1890*. J. Nat. Hist., 22: 1683-1696.
12. **Bennett, G.F., Peirce, M.A.** (1990). *The haemoproteid parasites of the pigeons and doves (family Columbidae)*. J. Nat. Hist., 24: 311-325.
13. **Bequaert, J. C**. (1953) *The Hippoboscidae or louseflies (Diptera) of manunals and birds. Part I. Structure, physiology and natural history*. Entomol. Amer., 33: 211-422.
14. **Bequaert, J. C.** (1954) *The Hippoboscidae or louse-flies (Diptera) of mammals and birds. Part II. Taxonomy, evolution and revision of American genera and species*. Entomol. Amer., 34: 1-232.
15. **Cardona, C.J., Ihrijika, A., Mcclellan, L.** (2001) *Haemoproteus lophortyx infection in Bobwhite quail.* Avian Dis., 46 (1): 249-255.
16. **Coles, E.H.** (1986) *Haemoproteus*, In: Coles, E.H. (Ed.): Veterinary Clinical Pathology, W.B. Saunders, Philadelphia.
17. **Dik, B.** (1993) *Adana, İçel ve Antalya Yörelerinde Bulunan Culicoides Latreille, 1908 (Diptera: Ceratopogonidae) Türlerinin Tesbiti*. Türk Vet. Hek. Derg., 5 (2): 48 – 55.
18. **Earle, R.A., Bastianello, S.S., Bennett, G.F., Krecek, R.C.** (1993) *Histopathology and morphology of the tisuue stages of Haemoproteus columbae causing mortality in Columbiformes*. Avian Pathol., 22: 67-80.
19. **Garnham, P.P.C.** (1950) *Blood parasites of East African vertebrates, with a brief description of exoerytrocytic schizogony in Plasmodium pitmani.* J. Parasitol., 40: 328-337.
20. **Gıcık, Y.** (1999). *Ankara ve çevresinde yaban güvercinlerinde ektoparazitler*. Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg., 5 (1): 71-74.
21. **Gıcık, Y., Aslan, M.Ö.** (2001) *Blood parasites of wild pigeons in Ankara district*. Turk. J. Anim. Sci., 25: 169-172.
22. **Godfrey, R.D., Fedynich, A.M., Pence, D.B.** (1987) *Quantification of Hematozoa in blood smears*. J. Wild. Dis., 23 (4): 558-565.
23. **Graczyk, T.K., Cranfield, M. R,. Shiff, C. J.** (1994) *Extraction of Haemoproteus columbae (Haemosporina: Haemoproteidae) antigen from rock dove pigeons (Columba livia) and its use in an antibody ELISA*. J. Parasitol., 80 (5): 713-718.
24. **Greiner, E.C.** (1975) *Prevalence and potential vectors of Haemoproteus columbae.* J. Wild. Dis., 11 (2): 150-156.
25. **Gülanber, A., Tüzer, E., Çetinkaya, H.** (2002) *İstanbul'da güvercinlerde Haemoproteus columbae ve Pseudolynchia canariensis'in yaygınlığı.* İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg., 28 (1): 227-229.
26. **Hartley, W.J.** (1992) *Some lethal avian protozoan parasites of native birds in Eastern Australia*. J. S. Afr. Assoc., 63: 90.

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

27. **Klei, T.R., DeGiusti, D.L.** (1975) *Seasonal occurrence of Haemoproteus columbae Kruse and its vector Pseudolynchia canariensis.* J. Wild. Dis., 11 (1): 130-135.

28. **Köroğlu, E., Şimşek, S.** (2001) *Elazığ yöresi güvercinlerinde (Columba livia) bulunan kan parazitleri ve yayılış oranları.* Fırat Üniv. Sağlık. Bil. Derg., 15 (1): 185-188.

29. **Kucera, J., Marjankova, K., Rachac, V., Vitrovec, J.** (1982). *Haemosporidiosis as a fatal disease in Muscovy ducks (Cairina moschata) in South Bohemia.* Folia Parasitol. (PRAHA), 29: 193-200.

30. **Maa, T.C.** (1963) *Genera and species of Hippoboscidae (Diptera): Types, synonymy, habits and natural groupings,* pp: 186, Pacific Insects Monograph 6, Bishop Museum Press, Honolulu, Hawaii.

31. **Malkani, P.G.** (1936) *Haemoproteus rileyi (sp. nov.) causing as a fatal disease in Indian peacock.* Ind. J. Vet. Sci. Anim. Husb., 66: 186-187.

32. **Markus, M.B., Oosthuizen, J.H.** (1972) *Pathogenicity of Haemoproteus columbae.* Transact. Royal Soc. Trop. Med. Hyg., 66: 86-187.

33. **Merdivenci, A.** (1963) *İstanbul camilerinde yuvalanan güvercin (Columba livia)'lerde parazit insidensi.* Türk Biyol. Derg., 13: 81-83.

34. **Mushi, E.Z., Binta, M.G., Chabo, R.G., Mathaio, M., Ndebele, R.T.** (1999) *Haemoproteus columbae in domestic pigeons in Sebele, Gaborone, Botswana.* Onderst. J.Vet.Res., 66: 29-32.

35. **Rashdan, N.A.** (1997) *Factors influencing infective capacity of Pseudolynchia canariensis Macquart (Diptera-Hippoboscidae) with Haemoproteus columbae Kruse.* J. Union Arab. Biol., 7 (A): 463-483.

36. **Resende, J.S., Martins, N.R.S., Jorge, M.A.** (2001) *An outbreak of malaria by Haemoproteus columbae in pigeons*. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., 53 (3): 361-363.

37. **Soulsby, E.J.L.** (1986) *Genus Haemoproteus Kruse, 1890,* 700-706. In: Soulsby, E.J.L. (Ed.): Helminths, Athropods and Protozoa of Domesticated Animals, 7 th edition, Bailliere Tindall, London.

38. **Springer, W.T.** (1972) *Other blood and tissue protozoa,* 727-740. In: Hofstad (Ed.): Diseases of Poultry, 6 th edition, Iowa State University Press. Ames, USA.

39. **Tolgay, N.** (1972) *Çeşitli kanatlıların Plasmodium, Haemoproteus ve Leucocytozoon enfeksiyonları üzerinde araştırmalar*. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg., 19 (3) 271-286.

40. **Valkiunas, G. A**. (1994) *Influence of haemoproteids and leucocytozoids on wild birds*. Eighth International Congress of Parasitology, 10-14 October 1994, Abstracts, Volume 1 (022.1. 266).

41. **Zinkl, J.G.** (1986) *Avian Haematology*, 256-273. In: Jain, N.C. (Ed.): Schalm's Veterinary Haematology, 4 th edition, Lea&Febiger, Philadelphia.

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

Bornova Vet. Kont. Araşt.
Enst. Derg., 29 (43): 31-34, 2007

CASE REPORT: CLINICAL OBSERVATION IN TWO DOGS WITH ATYPICAL BABESIOSIS

OLGU SUNUMU: ATİPİK BABESIOSIS'Lİ İKİ KÖPEKTE KLİNİK GÖRÜNÜM

Bülent ULUTAŞ[1], Serdar PAŞA[1], Tülin KARAGENÇ[2] Göksel BAYRAMLI[1]

Geliş Tarihi (Received): 26.04.2005 Kabul Tarihi (Accepted): 25.07.2005

SUMMARY

It is aimed in this case to present the clinical and laboratory findings in two dogs with atypical babesiosis. Materials of this presentation were 4 months old, two Rottweiler dogs with abdominal enlargement, inappetance, and exercise intolerance complaints. Blood samples were collected for hematology and biochemical analyses. Serum was analyzed for alanine aminotranferase (ALT), aspartate aminotranferase (AST), total biluribin, total protein (TP), albumin, urea and creatinine. Blood samples were analyzed for total white blood cells counts (WBC), packed cell volume (PCV) and hemoglobin concentration. The diagnosis was established microscopically determining the *Babesia* spp and confirmed using polymerase chain reaction (PCR) test in infected erythrocytes. Typical clinical findings of the disease in the dogs such as fever, pale mucous membranes and peripheral lymphadenopathy were seen however atypical findings such as ascites and diarrhea were also observed. Recovery had been noticed following therapy with Diminazen aceturate (Babenil, Sanofi, DIF) subcutaneously at a dosage of 3.5 mg/kg twice in 15 days period.

Key Words: Atypical babesiosis, case report, clinical aspects, dog

ÖZET

Bu olguda, atipik babesiosis'li iki köpekte klinik ve laboratuvar bulgularının sunulması amaçlandı. Bu sunumun materyalini, abdominal hacim artışı, iştahsızlık ve egserzise karşı isteksizlik görülen 4 aylık, iki Rottweiler köpek oluşturdu. Hematolojik ve biyokimyasal analizler için kan örnekleri toplandı. Serum örneklerinde alanin amino transferaz ve aspartat amino transferaz aktivitesi, total bilirubin, total protein, albumin, üre ve kreatinin düzeyleri ölçüldü. Tam kan örneklerinden total lökosit sayısı, hematokrit ve hemoglobin düzeyleri belirlendi. Tanı enfekte eritrositler içerisinde *Babesia* türlerinin mikroskobik olarak görülmesiyle kondu ve polymeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile kesinleştirildi. Köpeklerde ateş, mukozal membranlarda solgunluk ve periferal lenfadenopati gibi tipik klinik bulguların yanı sıra; ascites ve ishal gibi atipik bulgular da görüldü. 15 gün arayla iki kez 3,5 mg/kg dozda deri altı Diminazen aceturate (Babenil, Sanofi, DIF) tedavisini takiben iyileşme gözlendi.

Anahtar Kelimeler: Atipik babesiosis, klinik görünüm, köpek, olgu sunumu.

INTRODUCTION

Canine babesiosis is a tick-borne disease caused by hemoprotozoan parasites of the genus *Babesia* (1). *Babesia canis* and *Babesia gibsoni* are recognized as the two species that cause canine babesiosis worldwide. Both organisms have *Ixodid* tick vectors and are found throughout Asia, Africa, Europe, the Middle East, and North America, with *B. canis* being more prevalent (4). *Babesia canis* ("large" *Babesia*) generally appears as a paired piriform figure measuring 5 x 2-3 micrometers. *Babesia gibsoni* ("small" *Babesia*) is usually smaller (measuring 1.9 x 1.2 micrometers), singular and signet ring shaped (11). Differences in pathogenicity among different strains of a single *Babesia* species, degree of parasitemia, the immunologic response, age of the dog and presence of concurrent infections with other agents all contribute to variations in the clinical picture and course of the diseases (5, 6, 10).

Babesiosis is characterized by fever, hemoglobinuria, and anemia, which occasionally results in death. The intraerythrocytic hemoparasite, *B. canis*, invades and replicates within canine red blood cells, causing varying degrees of hemolytic anemia and multiple-organ dysfunction (8). Prompt and accurate diagnosis is difficult because the signs and symptoms are non-specific and thus, correctly identifying the infectious agent is important for treatment and prognosis. Although hemolytic

[1]Adnan Menderes University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Internal Medicine, PK. 17 Aydin, Turkey
[2] Adnan Menderes University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Parasitology, PK. 17 Aydin, Turkey

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

Table 1. Some hematological and biochemical parameters in two dogs with atypical babesiosis.

		Male		Female*	
Parameters	Normal Range	Pre-treatment	Post-treatment**	Pre-treatment	Post-treatment**
PCV (%)	37-55	18	26	19	26
WBC (10^3/µL)	5.5-16.9	8.7	9.3	9.2	8.9
Hemoglobin (g/dl)	12.0-18.0	6.2	8.5	7.1	8.9
ALT (U/L)	-88	33.5	18.6	35.2	13.3
AST (U/L)	-88	45.3	33.0	43.4	41.8
Urea (mg/dl)	12-25	43.2	28.1	37.7	30.4
Creatinine (mg/dl)	0.5-1.5	2.45	0.5	2.19	0.9
TP (g/dl)	5.4-7.7	6.9	6.0	7.1	6.3
Albumin (g/dl)	2.3-3.8	2.06	3.15	2.45	3.43
T.bilirubin (mg/dl)	0.1-0.06	0.6	0.2	0.4	0.1

* Dog with concurrent infection with *E canis*.

** Analyses performed fifteen days after the last injection.

anemia is the distinctive feature of canine babesiosis, definitive laboratory diagnosis of active babesiosis requires the visualization of *Babesia* organisms within infected erythrocytes (8).

In this report, we describe the clinical and laboratory findings in two littermate dogs with naturally occurring atypical canine babesiosis.

CASE REPORT

4 months old, two littermates –one male and female- Rottweiler dogs were referred to the Small Animal Clinic of Internal Medicine of Veterinary Faculty of Adnan Menderes University with the complaints of inappetance, exercise intolerance lasting for four weeks. Abdominal enlargement and diarrhea was noticed at the last week's history. In clinical examination; the body temperatures were 39.7ºC for male and 40.1ºC for female, and pale mucous membranes, peripheral lymphadenopathy and ascites were also determined in both dogs. Feces were pasteous. No pethechiation or icterus was noticed. Parasitological examinations of feces were negative. Blood samples were collected for hematology and biochemical analyses. Serum was analyzed for alanine aminotranferase (ALT), aspartate aminotranferase (AST), total biluribin, total protein (TP), albumin, urea and creatinine by Microlab 200 photometer. Blood samples were analyzed for total white blood cells counts (WBC), packed cell volume (PCV) and hemoglobin concentration. Hematological and biochemical parameters in both dogs were given in Table 1.

The diagnosis was confirmed microscopically on blood smears, by demonstrating the presence of *B. canis* organisms in the infected erythrocytes (Figure 1). The hematologic diagnosis of babesiosis was confirmed using polymerase chain reaction (PCR) tests. To this end, a primer set, Can172F (5′ GTT- TAT- TAG- TTT- GAA- ACC- CGC 3′) and

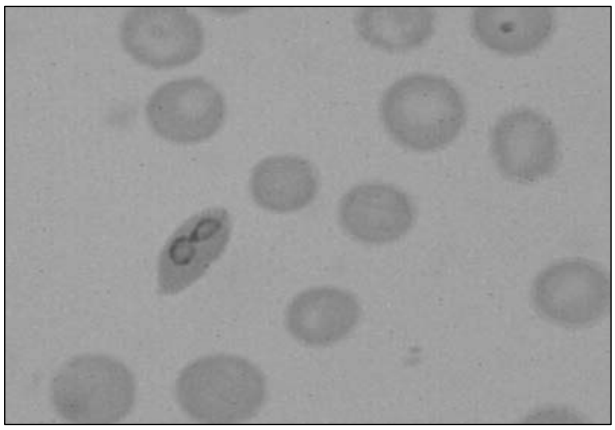


Figure 1. *B. canis* organisms in the infected erythrocytes on peripheral blood smears

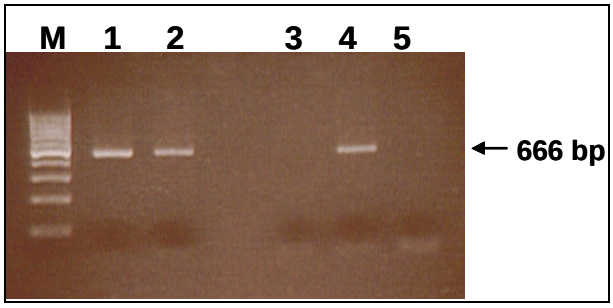


Figure 2. Amplification results for blood samples from dogs infected with B. canis (two cases). Amplified products were subjected to 2% agarose gel electrophoresis. Lane 1-2: infected animals, lane 3: negative control DNA; lane 4: positive control DNA; lane 5: negative DNA control (double-distilled water); M: moleculer marker.

Can626R (5′ GAA-CTC-GAA-AAA-GCC-AAA-CGA 3′) (Thermo Electron GmbH, Germany) was used to amplify a 454 base pair (bp) fragment of the

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

18S rRNA gene of *B. canis* (3). EDTA-treated blood was used for DNA extraction. Blood samples were kept frozen at -80°C until use. DNA from each sample was extracted following the Wizard Genomic DNA Purification Kit instructions of the manufacturer (Promega Corporation, Madison, WI, USA). The PCR mix contained 12.5 pmol of each primer, 100-µM h of deoxynucleotide triphosphate (dNTP, Roche Applied Science, Penzberg, Germany), 1× PCR reaction buffer (Roche), 1.25-U Taq DNA polymerase (Roche), and 5-µL test or control DNA sample in a final volume of 25 µL. The reaction mixture in each tube was covered with sterile mineral oil (Sigma Chemical Company, St Louis, MO, USA). Thin-walled, 200-µL tubes were used in a PCR thermal cycler (Perkin Elmer, Wellesley, MA, USA). Cycling conditions were 95°C for 5 minutes followed by 40 cycles at 95°C for 30 seconds, 55°C for 30 seconds, and 72°C for 90 seconds. A final extension step of 72°C for 10 minutes was also used. Along with DNA samples, a positive control DNA isolated from a blood sample known to be positive for *B. canis* (4), a negative control DNA (dog blood demonstrated to be negative by PCR (4), and a negative DNA control (5-µL double-distilled water substituted for DNA) were included in each PCR reaction. Both dogs were found to be positive by PCR test (Figure 2).

Both dogs also were tested for concurrent infection with *Ehrlichia canis*, determined using a rapid test (Speed Ehrli, Bio Véto Test, Seyne-on-Sea, France). Although the morula stage of *E. canis* was not detected in the blood smears, and no clinical or hematological signs of ehrlichiosis were observed, one dog with babesiosis was serologically positive for *E. canis,* as shown by the commercial kit. Examination of blood smears from both dogs and those infected with *B. canis* revealed no *Hepatozoon canis* or *Haemobartonella canis* organisms. In addition, *Leishmania* antibodies were not detected by immunofluorescent antibody test (BVT, France).

Dogs were treated for babesiosis using diminazen aceturate (Babenil, Sanofi, DIF). Two subcutaneous injections at a dose rate of 3.5 mg/kg BW with 15 days apart were performed for each dog.

DISCUSSION

Babesiosis is one of the most important tick-borne hemoparasitic diseases of dogs. Canine babesiosis appears in peracute, acute, chronic, subclinical and atypical forms with fever, hemolysis, splenomegaly and peripheral lmyphadenopathy (1, 7). Other occasionally appearing atypical signs are ascites, gastrointestinal or neurologic signs, peripheral edema, and clinical evidence of cardiopulmonary disease (1, 6, 7). Atypical clinical findings of the disease in our dogs were ascites and gastrointestinal signs.

Young dogs are more susceptible to certain strains of *B. canis* and frequently acquire a more severe infection than adult dogs (2). However no such predisposition seems to exist in canine babesiosis. Severe systemic inflammatory response, endotoxemic shock or disseminated intravascular coagulation, hemoglobinuria and jaundice especially seen in young dogs with peracute or acute forms of the disease (2), had not been determined in our dogs. This situation should be related with the chronic atypical form of the disease.

In the work done by Malherbe (9), dogs with babesiosis showed a decrease in serum albumin, and a significant rise in γ globulin fractions. In this study, hyperglobinemie, hypoalbuminemie, increased creatinine and urea levels and anemia were observed in both dogs (Table 1). Anemia was decided to be regenerative considering the findings of active erythrogenesis. Serum ALT, AST activity, total biluribin levels and WBC counts were within the normal ranges (Table 1).

Within 48 hours after the first injection the dogs started to eat and their daily activities were increased and as a quick response to babesiacidal treatment the parasites were rapidly disappeared from the circulation. At the second visit for the second injection ascites and diarrhea could not be noticed anymore. For a following up period for 15 days after the last injection no babesia parasites and no relapse were detected.

In conclusion this report is of interest because of the atypical signs of canine babesiosis such as ascites and enteritis had been present in two littermate dogs. Babesiosis should be considered in the evaluation of the dogs presenting occasional signs such as ascites, peripheral edema, ulceration, stomatitis, gastroenteritis, neurological signs, myositis, back pain and cardio-respiratory signs.

REFERENCES

1. **Breitschwerdt, E.B.** (1990) *Babesiosis.* 796-803 In: Greene, C.E. (Eds). *Infectious Disease of the Dog and Cat.* WB Saunder Co. Philadelphia.

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

2. **Harvey, J.W., Taboada, J., Lewis, J.C.** (1988) *Babesiosis in a litter of pups.* JAVMA, 192: 1751-1752.

3. **Inokuma, H., Yoshizaki, Y., Matsumoto, K., Okuda, M., Onishi, T., Nakagome, K., Kosugi, R., Hirakawa, M.** (2004) *Molecular survey of Babesia infection in dogs in Okinawa, Japan*. Vet Parasitol., 121: 341-346.

4. **Kırlı, G.** (2006). *Ege bölgesinde köpek babesiosis'inin yaygınlığı,* Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Aydın. pp 51.

5. **Kontos, V.J., Koutinas, A.F.** (1990) *Canine Hepatozoonosis: A rewiew of 11 naturally occurring cases.* Bul. Hel. Vet. Med. Soc., 41: 73-81.

6. **Kontos, V.J., Koutinas, A.F.,** (1997) *Clinical observations in 15 spontaneous cases of canine babesiosis.* Canine Pract., 22: 30-34.

7. **Lappin, M.R.** (1992) *Protozoal Diseases.* 1225-1241 In: Morgan, R.V. (Eds): Handbook of Small Animal Practice. Churchill Livingstone Inc. Edinburgh.

8. **Lobetti, R.G.** (1998) *Canine babesiosis.* Comp. Cont. Educ. Pract. Vet., 20: 418–430.

9. **Malherbe, W.D.** (1966) *A clinico-pathological study of Babesia canis infection in dogs.* PhD thesis, University of Pretoria.

10. **Martinod, S., Brossard, M., Moreau, Y.** (1985) *Immunity of dogs against Babesia canis, its vector tick Dermacentor reticulatus, and Ixodes ricinus in an endemic area*. J. Parasitol., 71: 269-273.

11. **Taboada, J.** (1998) *Babesiosis.* 473-481 In: Greene, C.E. (Eds). Infectious Disease of the Dog and Cat. WB Saunder Co. Philadelphia.

Adress for corespondence:

Assist. Prof. Bülent ULUTAŞ
Adnan Menderes Üniversitesi
Veteriner Fakültesi, İç hastalıkları Anabilim Dalı
Batı kampusü PK 17
09016 Işıklı-Aydın / Turkey
Phone: (+90) 256 247 07 00
E-mail: bulutas@adu.edu.tr

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

Bornova Vet. Kont. Araşt.
Enst. Derg., 29 (43): 35-42, 2007

ANİSAKİS'İN GIDA GÜVENLİĞİ VE HALK SAĞLIĞI YÖNÜNDEN ÖNEMİ

IMPORTANCE OF *ANISAKIS* FOR FOOD SAFE AND PUBLIC HEALTH

Özen KURŞUN [1] İrfan EROL [2]

Geliş Tarihi (Received): 15.09.2004 Kabul Tarihi (Accepted): 03.11.2004

ÖZET

Anisakiasis, insanlarda bazı deniz ürünlerinin çiğ ya da az pişmiş olarak tüketilmesiyle şekillenen zoonoz bir hastalıktır. Anisakiasis klinik olarak akut veya kronik şekilde başlıca sindirim sisteminde görülür. Ayrıca bu parazite duyarlı bireylerde alerjide görülmektedir. İnsanlara gıdalarla geçen hastalıklarda deniz ürünleri oldukça önemli bir yere sahiptir. İnsan gıdası için önemli bir kaynak haline gelen deniz ürünleri ile geçen hastalık etkenlerinin bilinmesi ve etkili mücadele yapılması gerekmektedir. Parazitlerin çok yaygın olmasına rağmen deniz ürünleri, kültürel alışkanlığımızdan dolayı çiğ ya da az pişmiş olarak tüketilmediğinden bu enfeksiyonlar çok nadir görülmektedir. Ülkemizde son yıllarda Avrupa ve Uzak Doğu'ya özgü popüler ve geleneksel yiyeceklerin tüketiminin artması nedeniyle toplumun bu konularda bilgilendirilmesi gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: Anisakiasis, *Anisakis simplex*, deniz ürünleri.

SUMMARY

Ingestion of raw or undercooked some seafood can lead to zoonotic disease known as anisakiasis. Clinical features of anisakiasis include acute and chronic form mainly affects the digestive tract. Furthermore, patients sensitised to this fish parasite show allergic diseases. Seafood has very important situation in the list of foods transmitting disease. To know the reasons of the diseases which transmitted from seafood and to struggle with these kind of diseases is important because seafood is a special source for human food. The parasites in seafood is widespread but in our country these kind of diseases are not spreading, this is why we won't eat undercooked seafood because of our cultural habits. Unfortunately in recent years, European and Far East's special, popular traditional foods consumption increases in Turkey so the society had to be render conscious.

Key words: Anisakiasis, *Anisakis simplex*, seafood.

GİRİŞ

Anisakiasis, Anisakidae familyasındaki *Anisakis*, *Pseudoterranova* ve *Contracaecum* gruplarına ait larval nematodları içeren deniz ürünlerinin, çiğ veya az pişmiş olarak tüketilmesiyle şekillenen zoonoz bir hastalıktır (2, 35). Anisakiasis deniz memelilerinde, balıklarda, kuşlarda ve nadiren sürüngenlerde de görülmektedir (21). Anisakiasise neden olan en önemli türler *Anisakis simplex* ve *Pseudoterranova decipiens* olup, *A. simplex*'in insanlarda en patojen tür olduğu ve *P.decipiens*'in daha hafif rahatsızlıklar meydana getirdiği belirtilmiştir (2).

Japonya'da 1950'li yıllarda Iwai'nin balıkçı köylerinde klinik ve histopatolojik görünümüyle farklılık gösteren, eozinofilik infiltrasyonla birlikte şiddetli alerjik reaksiyonlara neden olan bir intestinal hastalık dikkat çekerek araştırılmaya başlanmış ve yapılan histopatolojik incelemelerde görülen nematod larvasının *A. simplex* olduğu saptanmıştır (24). Son yıllarda endoskopik yöntemlerin geliştirilmesiyle başta Japonya olmak üzere birçok ülkede de hastalık teşhis edilerek bildirilmiştir (25).

Deniz ürünleri sektörü gıda ve protein ihtiyacını karşılamasının yanı sıra sağladığı ekonomik katkıyla önemini korumaktadır. Dünyada her yıl yaklaşık 100 milyon ton balık avlanmakta ama sadece 70 milyon tonu insan yiyeceği olarak değerlendirilmekte ve bunlar taze, dondurularak, tuzlanarak, kurutularak, tütsülenerek veya konserve edilerek tüketilmektedir (19). Tüm dünyada hayvansal protein tüketiminde büyük paya sahip olan deniz ürünleri aynı zamanda riskli gıdalar listesinde önemli bir yer tutmaktadır. Birçok biyolojik ve kimyasal etkeni içeren deniz ürünlerinin tüketiminden dolayı ciddi sağlık sorunları oluşmaktadır. Salgınların da özellikle çiğ ya da az pişmiş ürünleri tüketme alışkanlığı olan ülkelerde sıklıkla şekillendiği belirtilmiştir (23). Bu nedenle çiğ veya az pişmiş deniz ürünlerinin tüketilmemesi için toplumun bilgilendirilmesi gerekmektedir.

[1] Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Burdur
[2] Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Ankara

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

ANİSAKİS'İN SİSTEMATİKTEKİ YERİ

Anisakis türleri nematoda sınıfında Secennentea sınıfaltında Ascaridoidea familya üstünde yer almaktadır (4). Yeni yapılan genetik çalışmalar sonucunda *Anisakis* soyunda *A. simplex*, *A. pegreffii* (*A. simplex* A), *A.simplex sensu stricto* (*A. simplex* B), *A. simplex* C ile *A. ziphitarum* olmak üzere birkaç türün bulunduğu bildirilmiştir (1, 33). Türlerden *A.simplex sensu stricto*, *A. pegreffii* ile *A. simplex* C'ye "*A. simplex complex*" adı verilmektedir. Ayrıca uzun yıllar tek tür olarak bilinen *P. decipiens*'in ise yapılan araştırmalar sonucunda *P. decipiens* A, *P. decipiens* B ve *P. decipiens* C olmak üzere alt türlere ayrıldığı bildirilmiştir (39).

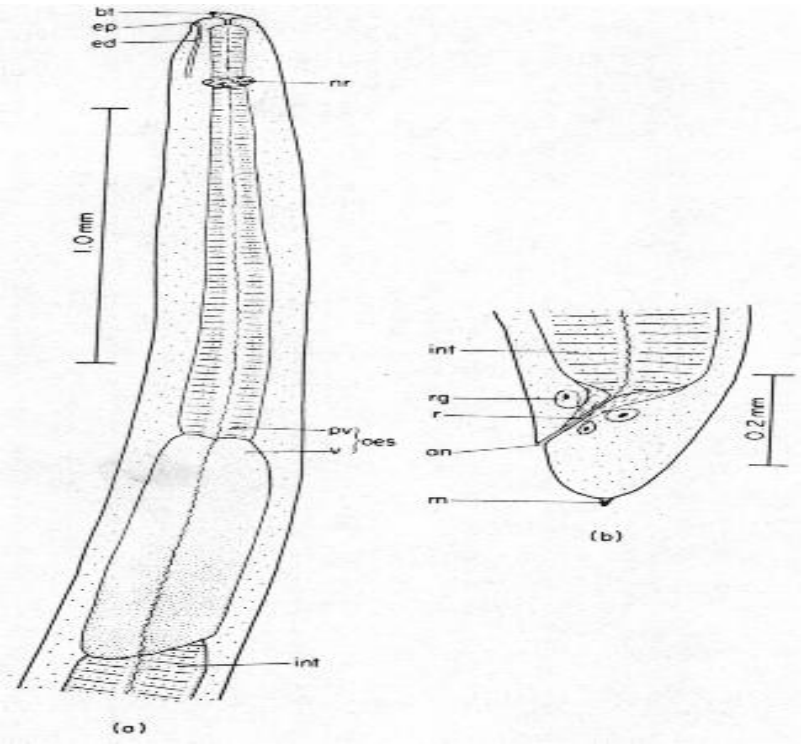
ANİSAKİS'İN MORFOLOJİSİ

Vücutları uzun olan *Anisakis* nematodların her iki ucu sivri bir şekilde son bulmaktadır (Şekil 1). Ağız etrafında üç dudak bulunup bunların üstünde salgı bezi ağzı yer almaktadır. Kaslı ve bezli iki kısımdan oluşan özefagusda uzun bir ventriculus bulunmaktadır. *Anisakis simplex*'de ventricular apendiks ve intestinal sekum yoktur. Olgunlarda interlabia bulunmamaktadır (35). *Anisakis simplex*'in şematik görünümü Şekil 2'de, *A. simplex* ile *P. decipiens* arasındaki morfolojik farklar ise Tablo 1'de belirtilmiştir.

Şekil 1. *A. simplex*'in görünümü (Anon, 2002).

ANİSAKİS'İN YAŞAM DÖNGÜSÜ

Anisakis sınıfındaki birçok türün yaşam döngüsü hala çok iyi bilinmemektedir. Parazitin genellikle iki veya daha fazla ara konak ile belirli bir son konakları bulunmaktadır. Olgun nematodlar son konakları olan *Pinnipedia* grubuna ait fok, penguen, mors balığı ile *Catecea* grubuna ait balina, domuz balığı, yunus balığı gibi deniz memelilerinin mide ve ince bağırsaklarında yaşarlar (35).

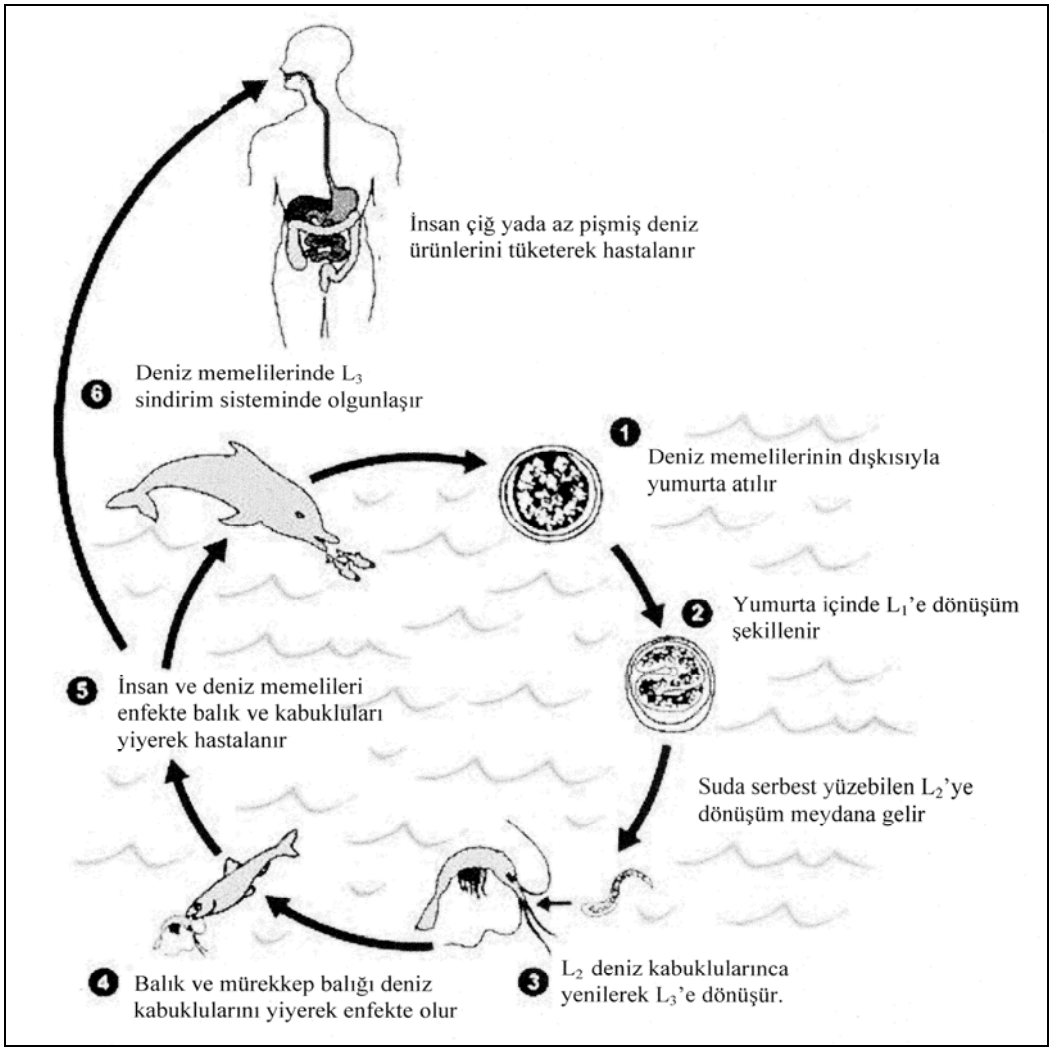


Şekil 2. *A. simplex*'in L_3'ne ait (a) anterior bölgesi; (b) posterior bölgesi. Kısaltmaların açıklamaları: an-anüs; bt-sıkıcı dişler; ed-excretory kanal; ep-excretory por; int- barsak; m- mukron; nr- sinir tasması; oes- özafagus; pv- preventrikulus; r-rektum; rg-rektal bez; v-ventrikulus (Smith, 1983).

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

Tablo 1. *A. simplex* ile *P. decipiens* arasındaki farklar (12).

Parametre	*Anisakis simplex*	*Pseudoterranova decipiens*
Coğrafik Dağılım	Kutup bölgelerinde yaygın	Ilıman kutup bölgerinde
Yaşam Döngüsü		
Kesin konak	Balina	Deniz fokları
III.dönem larva	Uzun ventrikulus	Ventrikulusla beraber sekum
	28.4x0.49 mm	32.6-0.80 mm
Renk	Beyaz	Kırmızı
Cuticula	İnce	Kalın
Histolojik Kesit	Y- şeklindeki lateral kord	Kelebek seklindeki lateral kord



Şekil 3. *Anisakis simplex*'in yaşam döngüsü (Anon, 2002).

Deniz memelilerinin dışkıları ile atılan 40x50 µm çapında, ince kabuklu parazit yumurtası açılmadan I. dönem larva (L_1) haline dönüşür. L_1, suda serbest olarak yüzebilen 220-290 µm uzunluğunda olan II. dönem larvaya (L_2) dönüşür. Belirli bir süre gerektiren bu dönüşüm suyun sıcaklığına göre değişmektedir (2). Yumurtadan L_2'ye dönüşüm 13-18 ºC sıcaklıkta 4 –8 günde ya da 5-7 ºC'de 20-27 günde olmaktadır. L_2 deniz suyunun sıcaklığına bağlı olarak 8.6 ºC'de 75-105 gün, 24 ºC'de ise 3-8 gün canlı kalabilmektedir (14). L_2'nin gelişimine devam edebilmek için ise mutlaka ara konak tarafından tüketilmesi gerekmektedir. Deniz kabukluları ve balıklar tarafından alınan L_2, bu ara konaklarda L_3 haline gelir. Balıkların II. ara konak görevi gördüğü durumlarda L_3, IV. dönem larvaya (L_4) dönüşür. Paratenik konak görevi gören balıklarda ise L_3 mide veya bağırsak duvarını delerek ankiste ya da serbest olarak periton, karaciğer veya diğer dokulara geçer. Son konak olan

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

balıklarda ve deniz memelilerinde ise L_3, L_4 ile V. dönem larvaya (L_5) dönüşüp daha sonra olgun hale gelir (2).

İnsanlar infeksiyona daha çok dokularında L_3 bulunduran paratenik arakonaklar ile L_4 içeren II. konak görevi gören balıkları çiğ veya az pişmiş halde tüketerek yakalanırlar. İnsan rastlantısal konak olup kesin konak olmadıklarından parazitler olgun hale gelemezler (2, 35). Şekil 3'de *A. simplex*'in yaşam döngüsü gösterilmiştir (7).

ANİSAKİS'İN EPİDEMİYOLOJİSİ

Anisakis simplex, Kuzey Deniz'inden Pasifik Sahilleri'ne kadar dünyanın birçok bölgesinde bulunmaktadır. Bu geniş dağılıma paralel olarak birçok deniz kabuklusu ve yumuşakcası, balık ve deniz memelisi *A. simplex*'in konağı ya da arakonağı durumundadır. Yaklaşık olarak 200 balık ve 25 deniz yumuşakçası türünün *A. simplex*'in son konak veya ara konakları olduğu bildirilmiştir (2).

Araştırmalar sonucunda *A. pegreffii*'nin Akdeniz sularında, *A.simplex sensu stricto*'nun Kuzey Atlantik Denizi'nde, *A. simplex* C'nin ise Pasifik Okyanusu ile Avustralya sularında yaygın olarak bulunduğu bildirilmiştir (1, 33).

Balıklarda infeksiyonun prevalansı oldukça yüksektir. Baltık Denizi'nde, ringa balıkları üzerinde yapılan bir çalışmada alınan örneklerin % 95'inde enfestasyona rastlanılmıştır (2). California'nın Monterey Körfezi'nde, 1981-1990 yıllarında Pasifik ringa balıklarında (*Clupea harengus pallasi*) *A. simplex* prevalansının % 93 olduğu bildirilmiştir (36). Ligurian Denizi'nde Mart 1992- Nisan 1993 arasında yapılan bir çalışma sonucunda istavrit balıklarında (*Trachurus trachurus*) *A.simplex* prevalansının % 80-100 olduğu açıklanmıştır (32). Norveç'in Barents Denizi'nde, 1989 yılının Ocak ve Şubat ayında yapılan bir çalışmada da morina balıklarında (*Gadus morhua*) *A. simplex*'in % 96 oranında olduğu bildirilmiştir (8). Yapılan başka çalışmalarda ise Norveç sahillerinde 1990 yılında Ocak ve Aralık aylarında morina balıklarında *A. simplex*'in % 99.6 oranında olduğu, parazite rastlanma sıklığının mevsime bağlı olarak bahar ayında yükseldiği ve Nisan ayında da en yüksek düzeye ulaştığı bildirilmiştir (39, 41).

Türkiye'de *Anisakidae* ailesine bağlı olan *Contracaecum* sp.'ye alabalık ve hamsilerde, *Hysterothlacium aduncum*'a ise Karadeniz'de avlandığı belirtilen iki mezgit balığında rastlandığı bildirilmiştir (16, 17, 38).

Anisakiasis Japonya ile Hollanda dışında Danimarka, İngiltere, Almanya, Belçika, Fransa, ABD, Kore, Şili ve Peru'da da bildirilmiştir. Hollanda'da 1955 ile 1968 yılları arasında 160 anisakiasis olgusu meydana gelmiştir. Japonya'da ise 1976 yılına kadar 1000'den fazla anisakiasis olgusu bildirilmiştir (2).

Avrupa'da insanlarda yılda 5-25 anisakiasis şekillenirken, Japonya'da ise geleneksel yiyecekleri olan sushi ve sashimi tüketimine bağlı olarak yılda yaklaşık 1000 anisakiasis olgusuna rastlandığı bildirilmektedir (31). Hastalığın yüksek oranda bulunduğu Japonya'da genelde 20 ile 50 yaş arasındaki kişilerde görüldüğü bildirilmektedir (2). Anisakiasis'in yıllara göre dağılımı Tablo 2'de verilmiştir.

ANİSAKİS'İN KLİNİK BULGULARI VE HİSTOPATOLOJİSİ

Balıklarda anisakiasis ciddi patolojik değişikliklere neden olmakta ve önemli organları etkilemektedir. Karaciğer en çok etkilenen organ olup sıklıkla atrofi şekillenir. Hastalık midede delinme, iç organlarda yapışma ve kaslarda tahribat yapmaktadır (2, 42).

İnsanlarda anisakiasis klinik olarak akut veya kronik şekilde başlıca sindirim sisteminde görülür. Sindirim sistemi dışında akciğer, dalak, pankreas ve karaciğer gibi organlarda da anisakiasis görülebilmektedir (34). Ayrıca kronik tonsillitisi olan 6 yaşındaki Hintli bir kız çocuğuna uygulanan tonsillektomi sonucunda yapılan histopatolojik incelemelerde tonsil içinde *Anisakis* larvası görülmüştür (11).

Çiğ ya da az pişmiş deniz ürünlerinin tüketiminden sonra 6 saat içinde şekillenen akut anisakiasisde mide bulantısı, kusma, diyare ve şiddetli karın ağrısı en önemli belirtilerdir. Bu klinik bulgulardan dolayı bağırsak tıkanması, apandisitis, gastroduodenal ülser, peritonitis gibi hastalıklarla karışabilmektedir. Kronik anisakiasisde ise daha hafif ve aralıklarla seyreden karın ağrısı, bulantı, kusma, kabızlık ve bazen de kanlı dışkı görülmektedir (5, 12, 15).

Japonya'da bu hastalığın çok fazla görülmesinden dolayı parazitin larvası daha midede iken teşhisi yapılmaktadır. Bu nedenle Japonya'da görülen anisakiasis olgularının % 65'inde larvaların midede, % 30'unun ise bağırsaklarda lokalize olduğu belirtilmiştir. Hollanda'da ise intestinal anisakiasisin gastrik anisakiasise oranla prevalansı daha yüksektir (2).

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

Tablo 2. Anisakiasisin yıllara göre dağılımı (26, 29, 37).

Yıl	Ülke ve Olgu Sayısı
1955	İlk olgu, Hollanda
1955-1965	149 olgu, Hollanda
1964-1976	1000'den fazla olgu, Japonya
1973	Boston'da (ABD) ilk olgu
1980	Japonya'da 500'den fazla hasta
1977-1981	California'da (ABD) hastalardan ikisi *A. simplex*, üçü *P.decipiens*
1981-1989	ABD'de 50 olgu *A. simplex*, 30 vaka ise *P.decipiens*

Tablo 3. Anisakiasisin patogenezi (12).

Süre	Parazitin Durumu	Patogenezis
≤ 1 saat	Mukoza ve submukozaya yapışır	Hemoraji
4-6 gün	Mukozaya penetre olur	Eozinofilik granuloma, ödem, nekroz
7-14 gün	Larva etrafında granuloma sekillenir	Lokal ve genel alerjik reaksiyonlar
≥ 15 gün	Larva ölür	Kronik ülser

Bu parazitin akut ya da kronik alerjik hastalıklara neden olduğu (34), akut anisakiasisde oluşan tip I ve/veya tip III alerjik reaksiyonu sonucu karın ağrısı ile sindirim sisteminde eozinofilik infiltrasyon meydana geldiği görülmektedir (3). Anisakiasisde oluşan alerjik reaksiyonlar sonucu ürtiker, akciğer rahatsızlıkları, alerjik ödem, poliartritis, konjuktivitis, kontakt dermatitis, Crohn's hastalığı ve eozinofilik gastroenteritis gibi diğer hastalıklara da neden olduğu belirtilmektedir (12).

İnsanda anisakiasis farenks, özefagus, mide, duodenum, jejunum, ileum, apendiks, kolon ve rektumda görülmüştür (2). Patolojik-anatomik incelemelerde parazit mide ya da bağırsakta lokalize olduğu bölgelerde ülserasyon, hemorajik odak ve diffüz tümörler meydana getirmektedir (12).

Histopatolojik kesitlerde yoğun eozinofilik infiltrasyonun yanında ödem, histiyosit, lenfosit, nötrofil, plazmosit ve bazen dev hücreler görülmektedir. Eozinofilik apseler veya flegmonlar *Anisakis* larvalarını içerir (27). Anisakiasis'in patogenezi Tablo 3'de verilmiştir (12).

Uskumru tüketimi sonucunda akut ürtiker şekillenen gastrik anisakiasisli bir hastada anafilaktik reaksiyonun *A. simplex* larvasından meydana gelmesi sonucunda yapılan incelemelerde, alerjik reaksiyonların eozinofilik infiltrasyonun lokal duyarlılığı arttırmasından kaynaklandığı belirtilmiştir (12). İnsanlarda ürtiker meydana gelmesine, parazitin proteinlerine karşı şekillenen tip I ve/veya tip II alerjik reaksiyonları neden olmaktadır (3).

Bununla birlikte *A. simplex*'in ölmesi için uygulanan pişirme ya da dondurma işlemleri parazite duyarlı kişilerde alerjik reaksiyonların şekillenmesini önleyememekte, *A. simplex* ile enfekte deniz ürünlerinin pişirilerek tüketimi sonucunda duyarlı bireylerde anafilaktik şok meydana gelmektedir (3, 9).

Anisakis simplex'in duyarlı bireylerde alerji meydana getiren antijenik molekülleri 3 gruba ayrılmıştır. Bunlar:

1- Salgı Bezleri Antijenleri
2- Yüzey Antijenleri
3- Vücut Antijenler

Anisakis simplex salgı bezlerinden salgılanan hyaluronidaz, proteaz gibi enzimler sayesinde konağın sindirim sistemine tutunur. Aynı zamanda Ani s1 (24 kDa) adı verilen antijen de *A. simplex*'e karşı alerji meydana getirmekte ve oldukça spesifik özellik göstermektedir. *Anisakis simplex* için yüzey antijenleri ise daha az spesifik olup parazitin kutikulasında bulunan kollagen ve diğer hidrofobik proteinler neden olmaktadır. Parazitin çevresini granülasyon dokusu sarmasıyla şekillenen alerjik reaksiyonlardan sorumludurlar. Parazitin ölmesinden sonra dokularının parçalanması ile açığa çıkan vücut antijenleri ise 30-40 proteinden (13-150 kDa) meydana gelmektedir (10).

ANİSAKİS'İN TANI VE TEDAVİSİ

Balıklarda nematodların saptanmasına yönelik kimyasal ve fiziksel yöntemler geliştirilmiştir. Nematodların saptanmasına yönelik yöntemlere örnek olarak pepsin-HCl digesyon yöntemi, UV ışık uygulaması, ultra-sonic ile SLAM (Scanning Laser Acoustic Microscope) cihazları verilebilir. En çok uygulanan, fazla miktarda balığın incelenmesine

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

olanak sağlayan SLAM ve UV ışık uygulamasıdır. Ancak bu uygulamanın doğru sonuç vermesi için balığın daha önce soğutulmuş olması ve çözünmenin şekillenmesi gerekmektedir (13, 28). Ayrıca avlanan yüzlerce balığa bu kontrolleri yapmak uygulamada zor ve pahalı olmaktadır.

Anisakiasis infeksiyonunda tanı yöntemleri üç şekilde olmaktadır (10, 30, 34).

1-Direkt Yöntem
-Gastroskopi Yöntemi

2-Histopatolojik Yöntemler

3-Serolojik Yöntemler
-Deri Testi
-Komplement Fikzasyon
-İndirekt Hemaglütinasyon
-ELISA
-Western Bloting Test

Anisakiasisin tedavisi enfeksiyonun başlangıç döneminde mide ve duodenumda teşhis edilen larvanın endoskopi yöntemi ile çıkarılarak olmaktadır. Lezyonlar şekillenmiş ise bölgenin operasyon ile alınması gerekmektedir. Ayrıca antelmentik olarak thiabendazole ve piperazin tuzlarının kullanılabileceği bildirilmektedir (30). Alerji görülen bireylerde ise diyetlerinden deniz ürünlerinin çıkartılması önerilmektedir (3, 18, 30).

ANİSAKİS'İN GIDALARDA BULUNUŞU, KORUNMA VE KONTROLÜ

İnsanlarda görülen anisakiasis olguları; çiğ, hafif tuzlanmış ya da tütsülenmiş balıkların tüketilmesi ile olmakta ve büyük bir tehlike oluşturmaktadır. Ayrıca deniz yumuşakçaları ve kabuklularının tüketilmesinde dikkat edilmesi gerekmektedir. Birçok ülkede çiğ deniz ürünleriyle hazırlanan ve tüketilmesi riskli olan geleneksel yiyecekler bulunmaktadır. Bunlardan bazıları, sushi, sushimi, ceviche, lomi lomi, poisson cru, çiğ ya da hafif salamura edilmiş ringa balığıdır (6).

Anisakiasis enfeksiyonlarını kontrol altına almak için, toplum sağlığı için çiğ balık ve diğer deniz ürünlerinin tüketilmesinin önlenmesi gerekmektedir. Enfekte deniz ürünlerinde bulunan larvaların canlı kalmaları önemli sağlık sorununa neden olur (23).

Gemilerde soğutucu sistemlerin yaygınlaştırılması ve yakalanan balıkların iç organlarının hemen temizlenmesi önem taşımaktadır. Balıklar avlandıktan sonra iç organlarının temizlenerek, fiziksel olarak uzaklaştırılmasıyla larvaların kaslara ani şekilde göçü (larval migrasyon) önlenmiş olur. Balıkların iç organlarının çıkartılma işlemi bu tehlikeyi tamamen yok etmeyip sadece azaltmaktadır. Çiğ balık tüketen ülkelerde bu işlemin uygulanmaması sonucunda balığın kaslarındaki larva sayısının çoğalmasıyla insanlarda enfeksiyon riski artmaktadır. Ayrıca elde edilen atık maddelerin denize atılmayıp deniz memelilerinin ve balıkların enfeksiyona yakalanması engellenmelidir (6).

Uygun sıcaklık-zaman parametrelerine göre balıkların pişirilmesi, dondurulması ve depolanması ile anisakiasis infeksiyonları engellenebilmektedir (43). Balıklarda bulunan *A. simplex*'i öldürmek için 60°C'de 1 dakika ile 65°C'de 30 saniye uygulan ısı işlemi yeterlidir (2).

Balıklarda dondurma işlemi ile merkezi sıcaklığın –35 °C olması ve –20 °C'de 24 saat depolanması parazitleri öldürmeye yeterli olmaktadır. Ayrıca –20°C'nin altındaki sıcaklıklarda dondurma işlemi uygulanması ve –20°C ve altındaki ısılarda en az 24 saat depolanması, dondurma ve depolamanın en önemli kritik kontrol noktaları oluşturmaktadır (22). Bununla birlikte Amerika Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) balıklarda bulunan parazitlerin ölmesi için, -20 °C'de veya daha düşük sıcaklıklarda 7 gün ile –35 °C'de veya daha düşük sıcaklıklarda 15 saat tutulmasını önermektedir (6).

Balıklarda kuru tuzlama işlemi *A. simplex* larvalarının canlılıklarını kaybetmesi açısından oldukça etkilidir. Larvalar 1000 kg ürün için 124 kg tuz kullanımı ile 4 hafta içerisinde canlılıklarını kaybetmektedir. Tuzlama işleminin etkili olması için tuzun balığın tüm dokularına ulaşması gerekmektedir (20).

Ayrıca çiğ deniz ürünlerinden hazırlanan sushi ve sushimi gibi bazı geleneksel gıdaların içerdiği tehlikenin boyutları konusunda toplumun bilgilendirilmesi önem taşımaktadır (6).

SONUÇ

Kolay elde edilebilen ve ekonomik deniz ürünleri, insan gıdası olarak önemli bir yer tutmaktadır. Ancak gerek insanlarda gerekse balıklarda parazitlerden kaynaklanan hastalıklar potansiyel bir tehlike oluşturmakta ve büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Dünyada gelişen teknolojiyle beraber deniz ürünleri üretimi de gelişmiş ve alışılagelmiş tüketim şekilleri dışında tüketilmesine olanak sağlamıştır. Ancak uygun koşullarda hazır-

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

lanmayan deniz ürünlerinden insanlara birçok hastalık bulaşmaktadır.

Deniz ürünleriyle bulaşan hastalıklar arasında "*anisakiasis*" başta Japonya ve Hollanda olmak üzere birçok ülkede önemli bir yer tutmaktadır. Hastalığa neden olan *A. simplex* larvasının deniz kabuklusu ve yumuşakcası ile balıkları enfekte etmesini engellemenin çok güç olması nedeniyle, deniz ürünleriyle bulaşmayı önlemek gerekmektedir. Bunun için *Anisakis* larvalarının fiziki olarak uzaklaştırılması larva sayısının azaltılması açısından önemlidir. Ancak bu işlem balıkların tutulmasından hemen sonra yapılmalı ve larvaların kaslara ani göçü önlenerek risk azaltılmalıdır. Balıkların temizlendikten sonra uygun sıcaklık-zaman parametrelerine göre soğutulması, dondurularak depolanması gerekmektedir.

Önemli diğer bir konu da deniz ürünlerinden çiğ ya da az ısı işlemi görerek hazırlanan sushi, sushimi, ceviche, lomi lomi, poison cru gibi bazı geleneksel yemeklerden meydana gelebilecek riskler konusunda toplumu bilgilendirmektir.

KAYNAKLAR

1. **Abollo, E., Gestal, C., Pascual, S.** (2001) *Anisakis infestation in marine fish and cephalopods from Galician waters: an updated perspective.* Parasitol. Res., 87: 492-499.
2. **Acha, N.P., Szyfres, B.** (1991) *Zoonoses and Communicable Diseases Common to Man and Animals.* Second Ed. Pan American Health Organization, Scientific Publication No, 503.
3. **Ancillo, A.M., Caballero, M.T., Cabanas, R., Contreras, J., Barrosa, J.A.M., Barranco, P., Serrano, M.C.L.** (1997) *Allergic reactions to Anisakis simplex parasitizing seafood.* Ann. Allergy Asthma Immunol., 79: 246-250.
4. **Anderson, R.C., Chabaud, A.G., Wiilmott, S.** (1974-1983) *C.I.H. Keys to the nemotode parasites of vertebrates. Nos. 1-10.* Commonwealth Agricult. Bureaux, Farnham Royal, Bucks, England.
5. **Anon** (1998a) *CommunicableDisease-Anisakiasis.* [http://www.hawaii.gov/health/cdd/cddanisa.htm] Erişim tarihi:02.09.1998 .
6. **Anon** (1998b) *Fish and Fishery Products Hazards and Controls guide. FDA.* [http://www./FDA/ CFSAN Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) (Seafood) Chapter 5-Parasite]
7. **Anon** (2002) http://en.wikipedia.org/wiki/Anisakis. Erişim tarihi: 25.05.2002.
8. **Aspholm, P.E.,** (1995) *Anisakis simplex Rudolphi, 1809, infection in fillet of Barents Sea cod Gadus morhua* . Fisheries Res., 23: 375-379.
9. **Audicana, M.T., Ansotegui, I.J., Corres, L.F., Kennedy, M.W.** (2002) *Anisakis simplex: dangerous- dead and alive?* Trends in Parasitology, 18 (1): 20-25.
10. **Baeza, M.L., Zubeldia, J.M., Rubio, M. (2001)** *Anisakis simplex allergy.* ACI. Int., 13: 242-249.
11. **Bhargava, D., Raman, R., E.L Azzouni, M.Z., Bhargava, K., Brusnurmath, B.** (1996) *Anisakiasis of the tonsils.* J. Laryngol. Otol., 110 (4): 378-388.
12. **Bouree, P., Paugam, A., Petithory, J.C.** (1995) *Anisakidosis: Report of 25 cases and review of the literature.* Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis., 14 (2): 75-84.
13. **Brattey, J.** (1988) *A simple technique for recovering larval ascaridoid nematodes from the flesh of marine fish.* J. Parasitol., 74 (4): 735-737.
14. **Brattey, J., Clark, K.J.** (1992) *Effect of temperature an egg hatching and survival of larvae of Anisakis simplex (Nematoda: Ascaridoidea).* Canadian J. Zoology, 70: 274-279.
15. **Del Pozo, V., Arrieta, I., Tunon, T., Cortegano, I., Gormez, B., Cardaba, B., Gallardo, S., Rojo, M., Renero, G., Palomino, P., Tabar, A., Lahoz, C.** (1999) *Immunopathogenesis of human gastrointestinal infection by Anisakis simplex.* J. Allergy Clin. Immunol., 104 (3): 637-643.
16. **Doğanay, A.** (1994) *Karadeniz'den avlanan mezgit balıklarında Hysterothlacium aduncum (Rudolphi, 1802) olgusu.* Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg., 41 (2): 208-217.
17. **Ekingen, G.** (1983) *Tatlı Su Balık Parazitleri.* Fırat Üniv. Su Ürünleri Yüksekokulu Yayınları 1.
18. **Esteve, C., Resano, P., Tejeiro, P.D., Benitez, M.F.** (2000) *Eosinophilic gastritis due to Anisakis: a case report.* Allergol Immunopathol., 28: 21-23.
19. **FAO** (1997) *Review of the state of world aquaculture.* FAO Fisheries Circular 886, Rev.1, Rome: FAO, pp.163.
20. **Grabda, J., Bier, W.J.** (1988) *Cultivation as an estimate for infectivity of larval Anisakis simplex from processed herring.* J. Food Infect., 51 (9): 734-736.
21. **Hartwich, G.** (1974) *Keys to genera of the Ascaridoidea.* No. 2. 1-15. In: Anderson, R.C., Chabaud, A.G., Willmott, S. (Eds): CIH keys to the nematode parasites of vertebrates. CAB, Slough.
22. **Howgate, P.** (1998) *Freezing to kill nematode parasites in fish products: Implications for HACCP.*[http://wwwseafood.ucdavis.edu/haccp/plans]Erişim tarihi: 01.06.2002.
23. **Huss, H.H., Reilly, A., Embarek, K.B.** (2000) *Prevention and control of hazards in seafood.* Food Control, 11: 149-156.

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

24. **Ishikura, H., Asanuma, T.** (1958) *On the strage terminal ileitis accompained with acute ileocaecal syndromes (first report).* J. Hokkaido Branch Jnp. Surg. Soc., 3: 63-64.

25. **Ishikura, H., Kikuchi, K., Nagasawa, K., Iowa, T., Takayami, H., Sato, N., Sugane, K.** (1994) *Anisakidae and Anisakidosis.* Prog. Clin. Parasitol., 3: 43-102.

26. **Jackson, G.J. (1975)** *The "new disease" status of human anisakiasis and North American cases: A. review.* J. Milk Food Technol., 38: 769-773.

27. **Jones, R.E., Deardorff, T.L., Kayes, S.G.** (1990) *Anisakis simplex: Histopathological changes in experimentally infected CBA/J mice.* Expermental Parasitol., 70: 305-313.

28. **Kessler, L.W., Yuhas, D.E.** (1979) *Acoustic microscopy –1979.* IEEE Proc, 67:526-536.In: Hafsteinsson, H., Rizvi, S.S.H. (1987) *A review of the sealworm problem: biology, implications and solutions.* J. Food Protect, 50 (1): 70-84.

29. **Kliks, M.M.** (1983) *Anisakiasis in the Western United States four new case reports from California.* Am. J. Trop. Med. Hyg., 32 (3): 526-532.

30. **Maggi, P., Iambrenghi, O.C., Scardigno, A., Scoppetta, L., Saracino, A., Valente, M., Pastore, G., Angarano, G.** (2000) *Gastrointestinal infection due to Anisakis simplex in southern Italy.* Eur. J. Epidemiol., 16: 75-78.

31. **Malkin, J.E., Lafaix, C., Prazuck, T., Haroche, G.** (1987) *Fish Anisakiase.* Med. Hyg., 45: 680-687.

32. **Manfredi, M.T., Crosa, G., Galli, P., Ganduglia, S.** (2000) *Distribution of Anisakis simplex in fish caught in the Ligurian Sea.* Parasitol. Res., 86: 551-553.

33. **Mattiucci, S., Nascetti, G., Cianchi, R., Paggi, L., Arduino, P., Margolis, L., Brattey, J., Webb, S., D'Amelio, S., Orecchia, P., Bullini, L.** (1997) *Genetic and ecological data on Anisakis simplex complex, with evidence for a new species (Nematoda, Ascaridoidea, Anisakidae).* J. Parasitol., 83 (3): 401-416.

34. **Moneo, I., Caballero, M.L., Gomez, F., Ortega, E., Alonso, M.J.** (2000) *Isolation and characterization of a major allergen from the fish parasite Anisakis simplex.* J. Allergy Clin. Immunol., 106: 177-182.

35. **Moravec, F.** (1994) *Parasitic Nematodes of Freshwater Fishes of Europe.* ISBN: 0-7923-2172-3, Dordrecht, Boston, London, pp.473.

36. **Moser, M., Hsieh, J.** (1992) *Biological tags for stock separation in Pacific herring Clupea harengus pallasi in California.* J. Parasitol., 78 (1): 54-60.

37. **Myers, B.J.** (1979) *Research then and now on the anisakidae nematodes.* Trans. Amer. Microscop. Soc., 95: 137-142.

38. **Oytun, H.Ş.** (1965) *Birkaç yıldan beri Karadeniz'de avlanan hamsi balıklarında görülen nematod larvalarına dair tamamlayıcı bilgi.* Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg., 12: 242-248.

39. **Paggi, L., Nascetti, G., Cianchi, R., Orecchia, P., Mattiucci, S., D'Amello, S., Berland, B., Brattey, J., Smith, J.W., Bullini, L.** (1991) *Genetic evidence for three species within Pseudoterranova decipiens (Nematoda, Ascaridida, Ascaridoidea) in the North Atlantic and Norwegian and Barents seas.* Int. J. Parasitol., 21: 195-212.

40. **Smith, J.W.** (1983) *Anisakis simplex (Rudolphi, 1809, det. Krabbe, 1878) (Nematoda: Ascaridoidea): Morphology and morphometry of larvae from euphausiids and fish, and a review of the life-history and ecology.* J. Helminthol., 57: 205-224.

41. **Stromnes, E., Andersen, K.** (1998) *Distribution of whaleworm (Anisakis simplex, Nematoda, Ascaridoidea) L3 larvae in three species of marine fish; saithe (Pollachius virens (L.)), cod (Gadus morhua L.) and redfish (Sebastes marinus (L.)) from Norwegian waters.* Parasitol. Res., 84: 281-285.

42. **Stromnes, E., Andersen, K.** (2000) *"Spring rise" of whaleworm (Anisakis simplex; Nematoda, Ascaridoidea) third-stage larvae in some fish species from Norwegian waters.* Parasitol. Res., 86: 619-624.

43. **Woo, P.T.K.** (1995) *Fish Diseases and Disorders.* University Press, Cambridge, UK, p.808. .

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

Bornova Vet. Kont. Araşt.
Enst. Derg., 29 (43): 43-47, 2007

KOİ HERPESVİRUS HASTALIĞI

KOI HERPESVIRUS DISEASE

Buket ÖZKAN ÖZYER[1]

Geliş Tarihi (Received): 20.12.2006 Kabul Tarihi (Accepted): 07.08.2007

ÖZET

Koi herpesvirus (KHV) hastalığı ot sazan balığı (*Cyprinus carpio carpio*) ve koi sazan balığında (*Cyprinus carpio koi)* solungaç lezyonları, deri lezyonları, yüzme bozuklukları ve yüksek mortalite oranı ile karakterize viral bir hastalıktır. Koi herpesvirus hastalığı, Dünya Hayvan Sağlık Örgütü (OIE) ve Avrupa Birliği tarafından ihbari mecburi hastalıklar listesine yeni alınmıştır. Hastalık Türkiye'de henüz ihbari mecburi hastalıklar listesinde yer almamaktadır ve hastalık bildirimi yoktur.

Anahtar Kelimeler: Koi herpesvirus, koi sazan, ot sazanı

SUMMARY

Koi herpesvirus disease, a viral disease, is characterized with gill lesions, skin lesions, uncoordinated swimming and high mortality rate in common carp (*Cyprinus carpio carpio*) and koi carp (*Cyprinus carpio koi)*. Koi herpesvirus disease is newly listed as a notifable disease by Office İnternational des Epizooties (OIE) and European Union. The disease has not been listed as a notifable and has not been reported yet in Turkey.

Key Words: Common carp, koi carp, koi herpesvirus

GİRİŞ

Dünyada ot sazanı (*Cyprinus carpio carpio*) yetiştiriciliği gıda amaçlı, koi sazan balığı (*Cyprinus carpio koi)* yetiştiriciliği ise hobi amaçlı olarak yapılmaktadır ve bir koi sazan balığının değeri 300 ile 1000 dolar arasında değişmektedir. Ot sazan balığı, ülkemizde yetiştiricilik bakımından ilk akla gelen türlerdendir ve yıllık tatlı su balık üretimimizin yaklaşık % 40'ını teşkil etmektedir. Bu üretim Ülkemizdeki iklim koşulları ve su kaynaklarının sazan balığı yetiştiriciliği açısından oldukça uygun koşullara sahip olduğunu gösterir. Son yıllarda Devlet Su İşleri tarafından kurulan yavru üretim tesislerinde üretilen balıkların göletlere bırakılması yoluyla ülkemizde sazan üretimi ve tüketimi artmıştır (1). Koi herpesvirus (KHV) hastalığı sazan yetiştiriciliğinde önemli ekonomik kayıplara neden olduğundan, son yıllarda yapılan uluslar arası düzeyde tartışmalar sonucunda 2006 yılında Dünya Hayvan Sağlık Örgütü (OIE)'nde ve Avrupa Birliği komisyon kararlarında ihbarı mecburi hastalıklar listesine alınmıştır (2, 4). Hastalık ülkemizde henüz ihbari mecburi hastalıklar listesinde yer almamaktadır.

Bu makalede ot sazanı ve koi sazanı yetiştiriciliğinde önemli bir tehdit olan KHV hastalığı tanıtılmıştır.

HASTALIĞIN DAĞILIMI

Koi herpesvirus hastalığı, koi sazan balığı ve ot sazan balıklarında KHV tarafından meydana getirilen morbidite ve mortalitesi yüksek viral bir hastalıktır. İlk KHV salgınları 1998 yılında İsrail ve Amerika'da bildirilmiş ve 1999 yılında hastalık etkeni identifiye edilmiştir (18).

Koi herpesvirus enfeksiyonu dünyada geniş bir coğrafik alanda görülmektedir. İlk salgınlar, Avrupa ülkelerinden Belçika'da 1999, İngiltere'de 2000, Hollanda'da 2001, Avusturya, Danimarka ve Almanya'da 2002, Fransa, Polonya, İsviçre, Lüksemburg ve İtalya'da 2003 yılında bildirilmiştir. Asya ülkelerindeki ilk bildirimler ise İsrail'de 1998, Tayvan ve Endonezya'da 2002, Japonya'da 2003, Tayland'da 2004 yılında yapılmıştır. Kuzey Afrika ülkelerinde 2001-2003 yıllarında ve Güney Amerika ülkelerinde de 1998 yılında ilk salgınlar rapor edilmiştir (9, 18). Türkiye'de KHV izolasyonu ile ilgili henüz herhangi bir bildirim yapılmamıştır.

[1] Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, 35010, İZMİR

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

Koi herpesvirus; Koi virus, carp nephritis ve gill necrosis virus (CNGV), cyprinid herpes virus 3 (CyHV3) olarak da bilinmektedir (3).

ETİYOLOJİ

Koi herpesvirus, Herpesviridae familyasında yer almaktadır. Virus, yaklaşık 100-110 nm çapında ikosahedral simetrili ve 250-300 Kbp'li çift iplikçikli DNA içerir. Koi herpesvirus, 31 virion polipeptidi ve 8 glikozilad proteinden oluşur. Kapsidi, bir tegument tabakası ve çift tabakalı bir lipoprotein olan zar çevreler (6, 18, 19, 23). Virus pH 3'ün altında veya pH 11'in üzerinde enfektivitesini kaybeder. Kloroform, diğer yağ solventleri ve okside edici ajanlara duyarlıdır. 60ºC'de 30 dakikada inaktive olmakta ve 35ºC'de 2 gün sonra enfektivitesini kaybetmektedir (3, 18).

EPİZOOTİYOLOJİ

Hastalığa duyarlı türler ot sazanı, koi sazan ve ot sazanı ile koi sazanın melezlemesinden elde edilen hayalet sazan (*Cyprinus carpio goi*)'dır. Diğer sazan türlerinin hastalıktan etkilenmediği bildirilmektedir (24). Koi herpesvirus enfeksiyonunu atlatan balıklar, persiste enfekte kalırlar ve yeni stoklara hastalığı aktarırlar (22, 24). Koi herpesvirus enfeksiyonu, etkilenen bir popülasyonda % 80-100 oranında mortaliteye neden olabilmektedir (10). Salgınlar, genellikle ilkbahar ve sonbahar aylarında ve su sıcaklığı 18-26ºC olduğunda görülmektedir. Hastalığın inkübasyon periyodu su sıcaklığına bağlı olarak 7-21 gün arasında değişmektedir (24). Koi sazanları ile farklı su sıcaklıklarında yapılan deneysel enfeksiyon sonucunda 23ºC'de % 95.2, 28ºC'de % 89.4-95.2, 18ºC'de % 85 oranında mortalite görülmüş, 13ºC'de ise mortalite görülmemiştir (7). Değişik yaş gruplarının duyarlılığının tespiti amacıyla yapılan çalışmalarda 2,5 g ve 6 g ağırlığındaki balıklarda % 92.5, 230 g ağırlığındaki balıklarda ise % 56 mortalite oranı tespit edilmiş ve balık ölümlerinin 5-7. günde başladığı, 10-14. günde pik seviyeye ulaştığı gösterilmiştir (15). Balığın virus ile karşılaşmasından sonra su sıcaklığına bağlı olarak hastalık ya da taşıyıcılık durumu gelişmektedir (10). Hastalığın yayılımında rol oynayan faktörler tam olarak bilinmese de kontrolsüz koi sazan hareketleri önemli bir yer tutmaktadır (11).

Banyo yolu ile uygulanan deneysel enfeksiyon sonucunda viral DNA, kan hücrelerinde ve böbrekte 3-5. günlerde tespit edilebilmiştir. Ancak kohabitasyon yolu ile oluşturulan deneysel enfeksiyon sonucunda 3-5. günlerde viral DNA tespit edilememiştir (17). Böbrek, virusun üremesi için en uygun organdır. Deneysel enfeksiyondan sonra daha az olarak solungaç, sindirim sistemi, karaciğer ve beyin dokusunda da viral DNA tespit edilebilmektedir (8, 17, 18). Koi herpesvirus enfeksiyonu zoonoz bir hastalık değildir (3, 10).

Koi herpesvirus, enfekte balık ile direkt temas, enfekte balığın vücut sıvıları ve enfekte yetiştirme sistemindeki su ve çamur ile bulaşabilmektedir (4). Virus, suda 4 saat enfektivitesini koruyabilmektedir (10, 17). Virusun vücuda solungaçlar yolu ile girdiği ve primer replikasyonun burada olduğu düşünülmektedir. Solungaçlarda çoğalan virus, sebep olduğu nekroz ve mukozal dökülme sonucu buradan suya yayılmaktadır. Ayrıca solungaçlardan beyaz kan hücreleri ile beyin, karaciğer ve böbreğe yayılarak böbrekte interstisyel nefritise neden olmaktadır (17, 18).

KLİNİK BELİRTİLER

Koi herpesvirus hastalığının klinik belirtileri spesifik değildir. Klinik belirtilerin başlangıcından itibaren 24-48 saat içerisinde ani ve hızlı ölümler görülür. Şiddetli solungaç lezyonları ve yüksek mortalite dikkat çekicidir. Bazı olaylarda sekonder bakteriyel ve paraziter enfeksiyonlar viral enfeksiyonu maskeleyebilir (10, 15, 26). Hastalıktan etkilenen balıklar su yüzeyine yakın ve hareketsizdirler. Solunum zorluğu ve yüzme bozuklukları görülebilir. Makroskobik olarak solungaçlarda kırmızı ve beyaz beneklenmeler, hemoraji, nekroz, dökülmeler, gözlerin içe çökmesi, derinin fazla mukus üretimi ve buna bağlı olarak zımpara kağıdı görünümü alması ve yüzgeçlerde konjesyon görülebilir (3, 4, 11, 13, 14, 24). Ayrıca vücut boşluklarında yapışmalar, iç organlarda alacalı görünüm, böbrek ve dalakta büyüme gözlenebilir (10, 11).

HİSTOPATOLOJİ

Histopatolojik muayenelerde banyo yolu ile deneysel enfeksiyondan sonra ki 2. günde solungaçlarda yangısal hücre infiltrasyonu ile birlikte lamellerde kayıp görülmektedir. Ancak bu değişiklik bütün filamentlerde yoktur ve enfeksiyonun erken aşamasında diagnostik bir bulgu değildir. Enfeksiyonun 6. gününde şiddetli yangı nedeniyle solungaç dokusu tamamen bozulur. Solungaç yayındaki kan damarlarında konjesyon ve subepitelyal yangıda artış vardır. Solungaç epitellerinde yaygın proliferasyon ve bununla ilgili olarak enfekte hücrelerde intranüklear inklüzyon cisimcikleri görülür. Solungaçların yanı sıra böbreklerde de önemli değişiklikler bulunur. Enfeksiyon sonrası

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

2. günde orta derecede peritubuler, 6. günde ise ağır intersitisyel yangısal infiltrasyon gözlenir. Yangısal interstisyel hücreler arasında intranüklear inklüzyon cisimcikleri taşıyan ve köpük gibi şişkin sitoplazmalı büyük hücreler bulunur. Bu hücreler enfekte hücre kültüründe gözlenen sitopatolojik effekti anımsatmaktadır. 8. gün infiltrasyonlar daha şiddetlidir ve intraepitelyal lenfositlerin varlığı ile birlikte bir çok nefronun tubuler epitelyumunda yağ dejenerasyonu vardır. Karaciğer parankiminde orta derecede yangısal infiltratlar ile beyinde fokal meningeal ve parameningeal yangı tablosu görülür (12, 15, 17, 18, 20).

TEŞHİS

Koi herpesvirus hastalığının teşhisi laboratuvar muayenelerine göre yapılmaktadır. Bu da ancak etken izolasyonu ve identifikasyonu ile olmaktadır. Virusun ilk izolasyonu, Koi yüzgeç (Koi fin, KF-1) hücre hattında yapılmıştır (11). Virus izolasyonu solungaç dokusundan, böbrek, karaciğer, bağırsak ve dalaktan hazırlanan inokulum kullanılarak ot sazanı beyin (common carp brain, CCB) ve KF-1 hücre hattında yapılabilmektedir (3, 11). Yapılan çalışmalar sonucunda virusun en iyi KF-1 hücre hattında 20-25ºC'de replike olduğu gösterilmiştir. Minimum replikasyon 10ºC'de görülmekte, 30ºC ve 4ºC'de replikasyon görülmemektedir (7). Virus, 20ºC'de KF-1 hücre hattına inokule edildikten sonra 2-3. günde enfekte hücrelerde büyüme ve endoplazmik vakuollerde artma, 3-5. günde KF-1 hücrelerinde yuvarlaklaşma, füzyon ve yoğun sitoplasmik vakuolizasyon gibi sitopatik effekt (CPE) görülür. 4-6. günlerde tipik plaklar ve hücre lizisi meydana gelir. Hücre kültürü sıvısında 3-5. günde önemli miktarda virus bulunmaktadır (5, 11, 17). Koi herpesvirus'un farklı hücre kültürlerine etkileri ile ilgili olarak Kore'de fead head minnow (FHM), chinook salmon embriyo-214 (CHSE-214), sazan epitelyal papillom (epithelioma papulosum cyprini, EPC) ve gökkuşağı alabalığı gonad (rainbow trout gonad, RTG-2) hücre hatları ile yapılan bir çalışmada sadece FHM hücresinde sitopatolojik effekt gözlenmiş ve elektron mikroskobu ile yapılan incelemeler sonucu virus partikülleri görülmüştür. Almanya'da da CCB, ot sazan solungaç (common carp gill, CCG), FHM, CHSE-214 ve EPC hücre hatlarında yapılan bir çalışma sonucunda CCB, CCG ve EPC hücre hatlarında sitopatolojik effekt gelişmiştir. İsrail'de yapılan diğer bir çalışmada ise KF-1 ve EPC hücre hatları kullanılmış ve KF-1 hücre hattında sitopatolojik effekt oluşurken EPC hücre hattında oluşmamıştır (18).

İdentifikasyon amacıyla çeşitli polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) teknikleri, elektron mikroskobi, insitu hibridizasyon, ELISA ve yeni bir nükleik asit amplifikasyon metodu olan loop-mediated isothermal amplification (LAMP) teknikleri kullanılmaktadır (5, 18, 21, 25). KHV ile oluşturulan deneysel enfeksiyondan sonra PCR ile yapılan çalışmada, ölen balıklarda 8-10. günde ve ölüm görülmeyen balıklarda 14. günde virus pozitif bulunmuştur (6).

İndirekt ELISA ile antikor tespiti yapılsa da antikorların varlığı o an için mevcut enfeksiyon varlığına yorumlanamamaktadır (18).

AYIRICI TANI

Koi herpesvirus hastalığı, klinik belirtiler, konakçı spektrumu, virusun antijenik özellikleri ve hücre kültüründe üreme özellikleri ile oluşturduğu sitopatolojik effekt yönünden sazan çiçeği virusu (carp pox), sazan herpes virusu (cyprinid herpes virus 1, CyHV-1) ve altın sazanların hematopoietik nekrozis herpes virus (cyprinid herpes virus 2, CyHV-2)'larından farklılık göstermektedir (23). Ayırıcı tanıda immunofloresan test, DNA restriksiyon fragment analizi, poliakrilamid jel'de proteinlerin ayrımı ve PCR ile gen sekanslarının belirlenmesi gibi teknikler kullanılmaktadır (18).

Sazangillerden izole edilen herpes virusların genetik olarak ilişkilerini araştırmak için 4 gen üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda KHV'un; CyHV-1 ve CyHV-2 ile yakından ilişkili olduğu ancak biyolojik özellikleri bakımından farklı olduğu ortaya konulmuş ve bu çalışma sonucunda KHV cyprinid herpes virus 3 (CyHV-3) olarak tanımlanmıştır. Aynı çalışmada KHV'nun diğer sazangillerden ve kurbağalardan izole edilen herpes viruslardan genetik olarak oldukça farklı olduğu da gösterilmiştir (23).

Etkeni bir RNA virus "Rhabdovirus carpio" olan sazanların diğer bir viral hastalığı bahar viremisi (SVC), 5-18ºC su sıcaklıklarında, KHV hastalığı ise daha yüksek su sıcaklıklarında oluşmakta, ayrıca SVC hastalığı ot sazanı, koi sazanı ve diğer sazan türlerinde, KHV hastalığı ise sadece ot sazan ve koi sazanlarında görülmektedir (10).

KONTROL VE MÜCADELE

Bütün viral balık hastalıklarında olduğu gibi KHV hastalığının kontrolünde de virusun balıklara bulaşmasını önlemek en etkili yöntemdir. Virustan ari su kaynaklarının kullanımı ve sadece viral has-

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

talık görülmeyen işletmelerden alınan sertifikalı yumurtaların kullanımı önemli kontrol tedbirleridir.

Hastalıktan korunma amacıyla; balık nakilleri ve hareketlerinin sınırlanması, kontamine suyu boşaltmadan önce klor ile muamele edilmesi, çiftlik içinde ve dışındaki su hareketlerinin kontrol altına alınması ve potansiyel taşıyıcılar için karantina önlemleri önerilmektedir Yeni balıklar bir süre ayrı bir sistem veya tankta tutulmalıdır. Bu süre 23-28ºC de en az 2 hafta (en uygunu 3-4 hafta) olmalı ve bu uygulama hem ithalat hem de ihracat sırasında uygulanmalıdır (3). Balık popülasyonunda görülen önemli balık kayıplarında hemen laboratuar muayenelerinin yaptırılması gerekmektedir (10). Taşıyıcı balıkların belirlenmesinde PCR tekniği kullanılmaktadır (3).

Koi herpesvirus hastalığının tedavisi yoktur. Salgın görülen popülasyon imha edilerek enfekte balık ile temasta bulunan tüm sistem ve ekipman dezenfekte edilmelidir. Dezenfeksiyon amacıyla klor solüsyonları, kuarterner amonyum klorid bileşikleri ve sodyum hipoklorid kullanılmaktadır (9).

Koi sazanlarında hastalığın kontrolü için suni olarak su sıcaklıkları ile ilgili uygulamalar da yapılmaktadır (3). Ölüm oranının 27ºC'nin üzerinde ve 15ºC'nin altındaki su sıcaklıklarında azaldığı gözlenmiştir (24).

Ronen ve ark. (19) izole ettikleri patojenik olmayan atenüe virus ile aşılanan sazanlarda hastalığa karşı direnç ve virusa karşı yüksek düzeyde antikor oluştuğunu ortaya koymuşlardır. Araştırıcılar, daha sonra yapılan çalışmalarda elde edilen bu attenüe virusun, hastalığın eradikasyonu için canlı aşı olarak kullanılabileceğini göstermişlerdir (16). Hastalığın ticari bir aşısı olmamakla birlikte aşı çalışmaları devam etmektedir (10).

KAYNAKLAR

1. **Alpaz, A.** (2005) *Su Ürünleri Yetiştiriciliği*. pp: 135-136. Alp Yayınları, Bornova-İzmir.
2. **Anonim** (2006) *Diseases listed by the OIE.* http://www.oie.int/eng/normes/fcode/en_chapitre_1.2.3.htm.
3. **Crane, M., Sano, M. And Komar, C.** (2004) *Infection with koi herpesvirus-Disease Card.* Developed to support the NACA/FAO/OIE regional quarterly aquatic animal disease (QAAD) reporting system in Asia-Pacific. NACA, Bangkok, Thailand.
4. **Denham, K.** (2006) *CEFAS perspective on koi herpesvirus (KHV)&Goldfish herpesvirus (GHV).* Working together to control disease. January 19, Cefas, Weymouth.
5. **Dishon, A., Perelberg, A., Bishara-Shieban, J., Ilouze., M., Davidovich, M., Werker, S. And Kotler, M.** (2005) *Detection on carp intersititial nephritis and gill necrosis virus in fish droppings.* Appl. Environ. Microbiol., 71: 7285-7291.
6. **Gilad, O., Yun, S., Andree, K.B., Adkison, M.A., Zlotkin, A., Bercovier, H., Eldar, A., Hedrick, R.P.** (2002) *Initial characteristics of koi herpesvirus and development of a polymerase chain reaction assay to detect the virus koi, Cyprinus carpio koi.* Dis. Aquat. Org., 48: 101-108.
7. **Gilad, O., Yun, S., Adkison, M.A, Way, K., Willits, N.H., Bercovier, H. And Hedrick.** (2003) *Molecular comparison of isolates of an emerging fish pathogen, koi herpesvirus, and the effect of water temperature on mortality of experimentally infected koi.* J. Gen. Virol., 84: 2661-2668.
8. **Gray, W.L., Mullis, L., LaPatra, S.E., Groff, J.M., Goodwin, A.** (2002) *Detection of koi herpesvirus DNA in tissues of infected fish.* J. Fish Dis., 25: 171-178.
9. **Haenen, O.L.M and Engelsma, M.Y.** (2004) *Global distribution of KHV with particular reference to Europe*. International Workshop on Koi Herpesvirus, February 12-13, London.
10. **Hartman, K.K, Yanong, R.P.E, Petty, B.D, Francis-Floyd, R. And Riggs, C.A.** (2004) *Koi herpesvirus (KHV) disease.* http:// www.edis.ifas.ufl.edu.
11. **Hedrick, R.P., Gilad, O., Yun, S.C., Mcdowell, T.S., Waltzek, T.B., Kelley, G.O. and Adkison, M.A.** (2005) *Initial isolation and characterization of a herpes-like virus (KHV) from koi and common carp.* Bull. Fish. Res. Agen., 2: 1-7.
12. **Hoffmann, R.W., El Matbouli, M., Soliman, H.** (2004) *Detection and isolation koi herpesvirus in Continental Europe.* International Workshop on Koi Herpesvirus, February 12-13, London.
13. **Hutoran, M., Ronen, A., Perelberg, A., Ilouze, M., Dishon, A., Bejerano, I., Chen, N., Kotler, M.** (2005*) Description of an as yet unclassified DNA virus from diseases Cyprinus carpio species.* J. Virol., 79: 1983-1991.
14. **Johnson, E**. (2003) *Koi herpesvirus.* www.suburbanponds.com/articles.
15. **Perelberg, A., Smirnov, M., Hutoran, M., Diamant, A., Bejerano, Y., Kotler, M.** (2003) *Epidemiological description of a new viral disease afflicting cultured cyprinus carpio in Israel.* Isr. J. Aquac. Bamidgeh., 55: 5-12.
16. **Perelberg, A., Ronen, A., Hutoran, M., Smith, Y., Kotler.** (2005) *Protection of cultured Cyprinus carpio against a lethal viral disease by an attenuated virus vaccine.* Vaccine, 23: 3396-3403.

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

17. **Pikarsky, E., Ronen, A., Abramowitz, J., Levavi-Sivan, B., Hutoran, M., Shapira, Y., Steinitz, M., Perelberg, A., Soffer, D., Kotler, M.** (2004) *Pathogenesis of acut viral disease induced in fish by carp intersititial nephritis and gill necrosis virus*. J. Virol., 78: 9544-9551.

18. **Pokorova, D., Vesely, T., Piackova,S., Reschova, S., Hulova, J.** (2005) *Current knowledge on koi herpesvirus (KHV): A review*. Vet. Med.-Czech., 50: 139-147.

19. **Ronen, A., Perelberg, A., Abramowitz, J., Hutoran, M., Tinman, S., Bejerano, I., Steinitz, M., Kotler, M.** (2003) *Efficient vaccine against the virus causing a lethal disease in cultured Cyprinus carpio.* Vaccine, 21: 4677-4684.

20. **Ronen, A., Perelberg, A., Hutoran, M., Shapira, Y., Steinitz, M., Levavi-Svan, B., Pıkarsky, E., Kotler, M.** (2005) *Prevention of a mortal disease of carps induced by the carp interstitial nephritis and gill necrosis virus (CNGV) in Israel.* Bull. Fish Res. Agen., 2: 9-11.

21. **Soliman, H. And El-Matbouli, M.** (2005) *An inexpensive and rapid diagnostic method of koi herpesvirus (KHV) infection by loop-mediated isothermal amplification*. J. Virol., 2: 83.

22. **St-Hilaire, S., Beevers, N., Way, K., Le Deuff, R.M., Martin, P., Joiner, C.** (2005) *Reactivation of koi herpesvirus infections in common carp Cprinus carpio.* Dis. Aquat. Org., 67: 15-23.

23. **Waltzek, T.B., Kelley, G.O., Stone, D.M., Way, K., Hanson, L., Fukuda, H., Hirono, I., Aoki, t., Davison, A.J. and Hedrick, R.P.** (2005) *Koi herpesvirus represent a third cyprinid herpesvirus (CyHV-3) in the family Herpesviridae.* J. Gen. Virol., 86: 1659-1667.

24. **Way, K.** (2004) *Koi herpesvirus-A threat to wild carp*. www.cefas.Co. Uk/publications/troutnews/ tnews 38.pdf.

25. **Way, K.** (2004) *Koi herpesvirus: Diagnostics and research at CEFAS Weymouth Laboratory 2000-2003.* International Workshop on Koi Herpesvirus, February 12-13, London.

26. **Yosha, S.** (2003) *Update on koi herpesvirus (KHV) for the koi hobbyist.* KOI USA Magazine. http://www.barsons.com/khv.htm. .

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

Bornova Vet. Kont. Araşt.
Enst. Derg., 29 (43): 49-52, 2007

EPERYTHROZOONOSİS

EPERYTHROZOONOSIS

Akın KIRBAŞ [1] Haydar ÖZDEMİR [2]

Geliş Tarihi (Received): 20.12.2006 Kabul Tarihi (Accepted): 06.09.2007

ÖZET

Bu derlemede, koyun, keçi, sığır, domuz ve ratlarda önemli sorun olan Eperythrozoonosis'in etiyoloji, epidemiyoloji, klinik bulgular, teşhis ve tedavisi hakkında son literatürlerin ışığında yeni bilgiler sunulmuştur.

Anahtar kelimeler: Eperythrozoonosis, domuz, keçi, koyun, rat, sığır

SUMMARY

In this review, the recent data on the etiology, epidemiology, clinical signs, diagnosis and treatment of Eperythrozoonosis which is an important problem in sheep, goat, cattle, pig and rats were presented in the light of literature.

Key words: Eperythrozoonosis, cattle, goat, pig, rat, sheep

GİRİŞ

Eperythrozoonosis, önceleri *Rickettsiales* takımının *Anaplasmatacae* ailesinin *Eperythrozoon* cinsinin türleri tarafından oluşturulan, özellikle domuzlarda, koyun, keçi ve albino ratlarda yüksek ateş ve anemi, sığırlarda da latent seyirli hemolitik tipte bir enfeksiyon olarak bilinmesine karşın (34), bugün *Mycoplasmatacae* ailesi içerisinde gösterilen *Hemoplasmalar'*ın neden olduğu enfeksiyon olarak ifade edilmektedir (20, 22, 23).

ETİYOLOJİ

Epeythrozoon cinsi, ilk kez fare kanında belirlenmiş ve çeşitli hayvanların kanlarında da bir eperythrozoon türü olduğu düşünülmüştür (17). Zorunlu parazit olan Eperythrozoon türleri rodentlerde, ruminatlarda ve domuzlarda enfeksiyon oluştururlar (30).

Eperythrozoon türleri, Giemsa ve Romanowsky tipi boyalarla, açık kırmızı, pembemsi, mor violet renklerde, 0.4 – 1.5 µm çapında yüzükler ya da koklar şeklinde görülür. Etken eritrositlere gevşek olarak bağlanmakta, kolaylıkla ayrılabilmekte ve plazmada serbest olarak bulunabilmektedir (17). Giemsa ile boyalı kan preparatlarında karakteristik olarak, yuvarlak ve oval şekildedir. Eritrositlerin yüzeyinde yüzük kümeleri şeklinde, çubuk şeklindeki formları da dolaşımdaki bir eritrositi kısmen veya tamamen kaplamış olarak bulunabilir. Karanlık saha ve faz konstrast mikroskopta yeni boyanmış preparatların muayenesinde kokoidler olarak görülür (16,17).

Elektron mikroskop çalışmalarında, pleomorfik organizmanın tek bir membranla çevrili olup, hücre duvarının bulunmadığı bildirilmiştir (15, 17).

Eperythrozoon türlerinin biyokimyasal ve metabolik özellikleri hakkındaki bilgiler sitokimyasal boyama çalışmalarından kaynaklanmaktadır. *E. wenyoni'*nin akridin turuncusu ile boyanmasında turuncu renkte floresans verdiği belirtilmektedir. Bu renk RNA içerdiğini göstermektedir. *Eperythrozoon coccoides'*in enfektif özellikte lipit içerdiği belirtilmiştir (17).

Sığırlarda *E. wenyoni, E. tauomi ve E. tegnodes* türleri enfeksiyon oluşturmaktadır. *Eperythrozoon wenyoni'*nin eritrositlerde, trombositlerde ve plazmada serbest olarak bulunduğu ve Giemsa boyamada pembemsi mor renk aldığı belirtilmektedir. Çok sayıdaki halka formu tek bir eritrosite yapışabilir, çubuk veya kokoid formlarda ise bir eritrositi tamamen çevreleyebilir. Bu organizmalar, Wright boyasıyla boyanmış kan preparatlarında ince yüzük, oval, virgül, çubuk, kokoid şekillerde eritrositlerin yüzeyinde ve plazmada çift ya da kümelenmiş olarak görülebilir. Çapları 0.4 – 1.5 µm arasında değişir (16, 30).

[1] Arş. Gör. Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Elazığ
[2] Prof. Dr. Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Elazığ

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

Koyun, keçi ve geyiklerde hastalık oluşturan *E. ovis* yüzük, oval, çubuk ve kokoid formda eritrositlerin yüzeyinde ve plazmada bulunur. Boyutları ortalama 0.5 – 1.0 µm arasında değişir (7, 16, 30).

Cinsinin en büyük türü olan *E.suis* genellikle yüzük şeklinde görülmekle birlikte çubuk ve kok formları da vardır. Boyutları 0.8 – 1.0 µm dir. Domuzların ikteroanemisinin nedeni olarak belirtilmektedir. *Eperythrozoon parvum* nonpatojenik bir tür olmakla birlikte kokoid ve yüzük şeklinde bulunur. Çapı 0.5 – 0.8 µm büyüklüktedir (5, 8, 39).

*Eperythrozoon coccoides'*in yüzük formunun yanında, kokoid, disk ve çubuk formları da bulunur. Ortalama boyutları 0.4 – 0.5 µm'dir. Albino ve yabani fareler, albino ratlar, tavşanlar ve hamsterler doğal konakçılarıdır (17, 30).

Son çalışmalarda, *Eperythrozoon* türleri *Mycoplasma* cinsi içerisinde incelenmektedir. Yeni sınıflandırmaya göre türler, *Mycoplasma wenyoni, Mycoplasma ovis, Mycoplasma haemosuis, Mycoplasma coccoides* isimleriyle tanımlanmıştır. Bu organizmaların 16SrRNA geni sekanslanarak diğer hemotropik bakteriyel parazitlerle aralarındaki ilişki belirlenmiştir. Filogenetik çalışmalarda bu türlerin hücre duvarsız bir riketsiya olmadığı ve *Mycoplasma* cinsi içerisindeki *Hemoplasmalar* olduğu görülmüştür (20, 22- 26).

EPİDEMİYOLOJİ

Eperythrozoon türlerinin neden olduğu Eperythrozoonosis tüm dünyada yaygın olarak gözlenmektedir (17).

E.wenyoni, Arjantin, Avustralya, Yeni Zelanda, Afrika, Orta Doğu ve Amerika Birleşik Devletleri'nde yaygın olarak görülmektedir (31). Taşınma şekli tam olarak bilinmemekle birlikte, bitler, sokucu sinekler, sivrisinekler ve *Hyalomma (H.anatolicum)* türü kenelerle nakledildiği belirtilmektedir (5).

E.ovis, Güney Afrika, Avustralya, Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa'da yaygın olarak görülmektedir. Bulaşma, doğal vektörleri *Melophagus ovinus* ve *Linognathus ovillus* ile mekanik olarak gerçekleşmektedir (5).

E.suis ve E.parvum, domuz bitleri *(Haemotopinus suis)*, sivrisinekler ve sokucu sinekler tarafından nakledilmektedir. Mekanik olarak, cerrahi malzemeler ve enfekte kanüller bulaşmada rol oynar. *Eperythrozoon suis*, transplesantal olarak da nakledilebilir (5, 17).

E. coccoides, fare biti olarak bilinen *Polyplax serrata* tarafından biyolojik ve mekanik olarak nakledilmektedir. Oral ve parenteral olarak da bulaşma şekillendiği belirtilmektedir (17). Türkiye'de *E.coccoides'*in varlığı bildirilmiştir (27).

KLİNİK BULGULAR

Hastalık sığırlarda latent seyir izlemesine karşın predispoze faktörlerin mevcudiyetinde klinik tablo gelişmektedir. Doğal enfeksiyonlarda, memede, distal bölgede ve arka bacaklarda ödem, prefemoral lenfoadenopati, geçici ateş, süt veriminde azalma, kilo kaybı, anemi ve sarılık belirgin klinik bulgulardır (4, 28, 31, 33). Deneysel olaylarda, 39–41°C arasında değişen yüksek ateş, boğalarda skrotumda ödem ve testiküler fonksiyonlarda baskılanma bildirilmektedir (21, 35, 36). Hematolojik olarak; mikrositik-normokromik anemi, polikromazi, bazofilik noktalar, anisositosis ve trombositopeni bildirilmiştir (21, 35).

Koyun ve keçilerde enfeksiyon şiddetli seyretmektedir (18). Koyun yetiştiriciliği yapılan ülkelerde büyük oranda sporadik olarak görülmekte ve ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Hastalığa özellikle *Merinos* koyunları duyarlıdır. Salgınlar özellikle kış mevsimi sonu ile ilkbahar mevsiminin başında oluşmaktadır (3).

İnkübasyon süresi 4 – 21 gün olan hastalık, daha çok süt emen ve sütten yeme yeni geçiş yapmış kuzularda şiddetli seyretmektedir. Kuzularda iştahsızlık, durgunluk, sürünün gerisinde kalma, solunum güçlüğü ve şiddetli anemi ile birlikte müköz membranlarda solgunluk dikkati çeken bulgulardır. Hemolitik tipte anemi ve kemik iliğinin muayenesinde de rejenerasyon gözlenir. Hastalıkta preimmunisyon oluştuğu bildirilmektedir (13).

Elektron mikroskobik çalışmalarda, *E.ovis'*in eritrosit membranında deformasyona neden olduğu, oluşan aneminin eritrofagositosis ve ekstravasküler hemolizden kaynaklandığı düşünülmektedir (5, 6, 7, 39). Bazı araştırıcılar egzersiz sonrasında belirgin bir hemoglobinüri geliştiğini bildirmektedir (38).

Nekropside, anemi, sarılık, kan viskozitesinde azalma, perikard ve toraksda sıvı birikmesi, karaciğerde belirgin renk değişimi, safra miktarında artış, dalakta büyüme ve kemik iliğinde hiperplazi bildirilmiştir (1, 13).

Lamalarda doğal vakalar belirtilmiştir. Bu hayvanlarda oluşan aneminin nonrejeneratif tipte bir anemi olduğu ve etkenlerin eritrositlerin yüzeyinde perdominant olarak kokoid çiftler ve gruplar halinde yaygın bir şekilde görüldüğü belirlenmiştir (29).

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

TANI

Anamnez verileri, klinik bulgular ve kan muayeneleriyle teşhis konur (1, 2, 34). Kan frotileri ateşli dönemde yapılmalıdır (1). Kan frotileri Giemsa ile boyandığında etkenin yüzük, oval formları, tek, çift ya da yüzük kümeleri halinde eritrositlerin yüzeyinde pembemsi mor renkte gözlenmektedir (16, 17, 30). Etkenler paraziteminin son 5–10 günü içerisinde periferik eritrositlerde ortaya konabilir. Eritrosit sayısının iyice azaldığı anemik dönemde etkenleri görmek mümkün değildir. Şüpheli olgularda, floresan mikroskobik (akridin-oranj) muayeneler yapılmalıdır (1).

Latent enfekte ve taşıyıcı hayvanları belirlemek için serolojik olarak; Komplement Fikzasyon (KF), İndirekt Floresan Antikor Testi (IFAT), İndirekt Hemaglutinasyon Testi (IHA) ve Enzyme-Linked Immunobsorbent Assay (ELİSA) kullanılmaktadır (2, 10, 11, 14, 32, 34). Moleküler teşhiste, Polimeraz Zincir Reaksiyonundan (PZR) yararlanılmaktadır (9, 19, 37).

Ayırıcı tanıda, sığır, koyun ve keçilerde anaplasmosis, babesiosis ve theileriosis'in de göz önüne alınması gerekir (1, 5).

TEDAVİ

Sığırlarda, tetrasiklin veya oksitetrasiklinlerle (20 mg/kg, I.M, tek uygulama) olumlu sonuçlar alınmıştır (21). Koyun ve keçilerde tetrasiklin, oksitetrasiklin (6,6 mg/kg, I.M. tek uygulama), neoarsphenamine (30 mg/kg) ve antimosan (6 mg/kg) ile başarı sağlanmıştır. Ancak bu uygulamaların tamamen sterilizasyonu sağlayamadıkları ifade edilmektedir (2). Koyunlarda imidocarb dipropionate ile (4mg/kg, S.C, 24 saat ara ile iki kez) sterilizasyon sağlanmaktadır (12).

SONUÇ

Eperythrozoonosis Türkiye'de beyaz laboratuvar farelerinde saptanmasına karşın, diğer hayvan türlerinde bu hastalıkla ilgili çalışma bulunmamaktadır. Dünyada yaygın olarak görülen Eperythrozoonosis'in Türkiye'de diğer hayvanlarda bulunup bulunmadığına dair çalışmaların yapılmasının yararlı olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. **Bilal, T., Bilal, T** (2005) *Koyun-Keçilerin İç Hastalıkları ve Beslenmesi*. pp: 90–106. İstanbul Üniversitesi Basım ve Yayınevi Müdürlüğü, İstanbul.
2. **Blood, D.C, Radostits, O.M.** (1989) *Veterinary Medicine, A Text Book of the Diseases of Cattle, Sheep, Pig, Goat, Horses.* pp: 963–973. Bailliere Tindall, London.
3. **Brigtling, A**. (1988) *Sheep Diseases*. pp: 50, Inkata Pres, Sydney.
4. **Carlson, G.P**. (2002) *Disases of the Hematopoietic and Hemolymphatic systems*. 1068–1108. In: Smith B.P. (Ed): Large Animal Internal Medicine. Horcourt Health Sciences Company. St. Louis, London.
5. **Fisher, M., Say, R.R.** (1989) *Manual of Tropical Veterinary Parasitology.* pp: 414–423. Published by C.A.B. International.
6. **Gulland, F.M., Doxey, D.L., Scott, G.R**. (1987) *The effects of Eperythrozoon ovis in sheep*. Res. Vet. Sci, 43 (1): 85–87.
7. **Gulland, F.M., Doxey, D.L., Scott, G.R**. (1987) *Changing morphology of Eperythrozoon ovis.* Res. Vet. Sci, 43 (1): 88–91.
8. **Henderson, J.P., Hagan, J.O., Hawe, S.M., Pratt, M.C.H.** (1997) *Anemia and low viability in piglets infected with Eperythrozoon suis.* Vet. Rec, 140 (6): 144–146.
9. **Hoelze, L.E., Adelt, D., Hoelze, K., Heintritzi, K., Wittenbrink, M,M**. (2003) *Development of a diagnostic PCR assay based on novel DNA sequences for the detection of Mycoplasma suis (Eperythrozoon suis) in porcine blood.* Vet. Microbiol., 93 (3): 185–196.
10. **Hsu, F.S., Liu, M.C., Chou, S.M., Zachary, J.F., Smith, A.R**. (1992) *Evaluation of an Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of Eperythrozoon suis antibodies in swine* Am. J. Vet. Res., 53 (3): 352–354.
11. **Hung, A.L., Lloyd, S.** (1985) *Humoral immune response of sheep to infection with Eperythrozoon ovis.* Res. Vet. Sci., 39 (3): 275–278.
12. **Hung, A.L**. (1986) *Chemotherapeutic efficacy of imidocarb dipropionate on experimental Eperythrozoon ovis infection in sheep*. Trop. Anim. Health. Pro., 18 (2): 97–102.
13. **Jensen, R., Swift, B.L.** (1982). *Diseases of Sheep.* pp: 297–313. Lea & Febiger, Philadelphia.
14. **Kawazu, S.İ., Nakamura, Y., Kamio, T., Fujisaki, K., Minami, T.** (1990) *Enzyme-Linked Immmunobsorbent Assay for detection of antibadies to Eperythrozoon wenyoni in cattle.* Jpn. J. Vet. Sci., 52 (6): 1297-1300.
15. **Keton, K.S., Jain, K.C.** (1973) *Eperythrozoon wenyoni: A scanning electron microscopy study.* J.Parasitol., 59 (5): 867–873.
16. **Kreier, J.P., Ristic, M.** (1963) *Morphologic, antigenic and pathogenic characteristics of*

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

Eperythrozoon ovis and Eperythrozoon wenyoni. Am. J. Vet. Res, 24: 488–500.

17. **Kreier, J.P., Gothe, R.** (1976) *Aegyptianellosis, Eperythrozoonosis, Grahamellosis and Haemobartonellosis.* Vet. Parasitol., 2 (1): 83–95.
18. **Martin, B.J., Chriss, C.E., Averill, D.R.** (1988) *The identification of Eperythrozoon ovis in anemic sheep.* Lab. Anim. Sci., 38 (2): 173–177.
19. **McAuliffe, L., Lawes, J., Bell, S., Barlo, A., Ayling, R., Nicholas, R.** (2006) *The detection of Mycoplasma (formerly Eperythrozoon) wenyonii by 16S rDNA PCR and denaturing gradient gel electrophoresis.* Vet. Microbiol., 117 (2–4): 292–296.
20. **Messick, J.B.** (2004) *Hemotropic mycoplasmas (hemoplasmas): a review and new insights into pathogenic potential.* Vet. Clin. Path., 33 (1): 2–13.
21. **Montes, A.J., Wolfe, D.F., Welles, E.G., Tyler, J.W., Tepe, E.** (1994) *Infertility associated with eperythrozoon wenyoni infection in a bull.* JAVMA, 204 (2): 261–263.
22. **Neimark, H., Kocan, K,M.** (1997) *The cell wall-less rickettsia Eperythrozoon wenyoni is a Mycoplasma.* Fems. Microbiol. Lett., 156 (2): 287–291.
23. **Neimark, H., Johanson, K.E., Rikihisa, Y., Tully, J.G.** (2001) *Proposal to transfer some members of the genera haemobartonella and Eperythrozoon to the genus mycoplasma with descriptions of 'Candidatus Mycoplasma haemofelis' 'Canditatus Mycoplasma haemomuris' 'Candidatus Mycoplasma haemosuis' and 'Candidatus Mycoplasma wenyoni'.* Int. J. Syst. Evol. Micr., 51 (3): 891–899.
24. **Neimark, H., Johanson, K.E., Rikihisa, Y., Tully, JG.** (2002) *Revision of haemotrophic Mycoplasma species names.* Int. J. Syst. Evol. Micr., 52 (2): 683.
25. **Neimark, H., Hoff, B., Ganter, M.** (2004) *Mycoplasma ovis comb. nov. (formerly Eperythrozoon ovis), an epierytrocytic agent of haemolytic anemia in sheep and goats.* Int. J. Syst. Evol. Micr., 54 (2): 365–371.
26. **Neimark, H., Peters, W., Robinson, B.L., Stewart, L.B.** (2005) *Phylogenetic analysis and descriptions of Eperythrozoon coccoides, proposal to transfer to the genus Mycoplasma as Mycoplasma coccoides comb. nov. and request for an opinion.* Int. J. Syst. Evol. Micr., 55 (3): 1385–1391.
27. **Özer, E.** (1994) *Beyaz laboratuar farelerinde (Mus musculus) Eperythrozoon coccoides (Schilling, 1928) ve Haemobartonella muris (Mayer,1921) enfeksiyonları.* Türk. J. Vet. Anim. Sci., 18 (3): 209–215.
28. **Poole, D.B.R., Cutler, R.S., Kelly W.R**. (1976) *Eperythrozoon wenyoni anemia in cattle.* Vet. Rec., 99 (24): 481.
29. **Reagan, W.J., Garry, F., Thrall, M.A., Colgan, S., Hutchıson, J., Weiser, M.G.** (1990) *The clinicopathologic, light and scanning electron microscopic features of Eperythrozoonosis in four naturally infected lamas.* Vet. Pathol., 27 (6): 426–431.
30. **Ristic, M**., **Kreier, J.P.** (1984) *Anaplasmataceae.* 719–729. In: Krieg, N.R., Holt, J.G.(Eds): Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol:1, Williams and Wilkins, Baltimore, London.
31. **Simith, J.A., Thrall, M.A., Smith, J.L., Salman, M.D., Ching, S.V., Collins, J.K**. (1990) *Eperythrozoon wenyoni infection in dairy cattle.* JAVMA, 196 (8): 1244 – 1250.
32. **Tamra, R., Smith, A.R.** (1975) *A indirect hemagglutination test for the diagnosis of Eperythrozoon suis infection in swine.* Am. J. Vet. Res., 36 (9): 1319 – 1321.
33. **Turgut, K.** (2000) *Veteriner Klinik Laboratuar Teşhis*. pp:17–79. Bahçıvanlar Basım Sanayi A.Ş, Konya.
34. **Waltisbuhl, D.J**. (2005) *Eperythrozoonosis*. 27–28. In: Kahn, M. (Ed): The Merck Veterinary Manual. Merck & CO INC. Withhouse Station, NJ, USA.
35. **Welles, E.G., Tyler, J.W., Wolfe, D.F.** (1995) *Hematologic and semen quality changes in bulls with experimentall Eperythrozoon infection*. Theriogenelogy, 43 (2): 427-437.
36. **Welles, E.G., Tyler, J.W., Wolfe, D.F, More, A.** (1995) *Eperythrozoon infection in young bulls with scrotal and hindlimb edema, a herd outbreak.* Theriogenelogy, 43 (3): 557–567.
37. **Vandervoort, J.M., Bourne, C., Carson, R.L., Heath, A.M., Boudreaux, M.K**. (2001) *Use of a polymerase chain reaction assay to detect infection with Eperythrozoon wenyoni in cattle.* JAVMA, 219 (10): 1432-1434.
38. **Veras, J**. (1988) *Haemoglobinuria in Eperythrozoon infected sheep*. Vet. Rec., 121 (12): 277.
39. **Zachary, J.F., Basgall, E.J.** (1985) *Erythrocyte membrane alterations associated with the attachment and replication of Eperythrozoon suis: alight and electron microscopic study.* Vet. Pathol., 22 (2): 164-170. .

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

BORNOVA VETERİNER KONTROL VE ARAŞTIRMA ENSTİTÜSÜ DERGİSİ YAYIN KURALLARI

1. Dergi, Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nün bilimsel yayın organı olup, yılda bir kez yayınlanır. Derginin kısaltılmış adı Bornova Vet. Kont. Araşt. Enst. Derg.'dir.
2. Dergide, Türkçe ve yabancı dilde (tercihen ingilizce) hazırlanmış, tamamı yada bir kısmı daha önce başka bir yerde yayınlanmamış olan Veteriner Hekimlikle ilgili orijinal bilimsel araştırmalar, derlemeler, gözlemler ve Enstitü çalışmaları ile ilgili bilgiler yayımlanır. Derleme şeklindeki yazılar, orijinal olması, en son yenilikleri içermesi ve klasik bilgilerin tekrarı olmaması durumunda kabul edilir.
3. Yazılar A-4 (210x297 mm) formunda beyaz kağıda, çift aralıklı, kağıdın üstünden ve soldan 2,5 cm, sağdan ve alttan 2 cm boşluk bırakılarak ve 12 pt kullanılarak yazılmalıdır. Yazılar şekil ve tablolar dahil olmak üzere, orijinal makalelerde 15, derlemelerde 10 ve gözlemlerde 5 sayfayı geçmemelidir.
4. Yazılar, Microsoft Word programında yazılmalı ve orjinalinin yanı sıra iki adet kopyası ve disketi ile birlikte gönderilmelidir. Kopyalarda yazar adı ve yazara ait bilgiler bulunmamalıdır.
5. Tablo, şekil ve grafikler: Her tablo, şekil ve grafik, başlık ve dipnotları ile birlikte ayrı bir sayfaya çift aralıklı olarak ve rakam ile örnekteki gibi (Tablo 1, Tablo 2.....) metinde geçtiği sıraya göre yazılmalıdır. Tablolar mutlaka Word programında tablo eklentisi içinde yazılarak makale disketi içinde bulunmalıdır. Fotoğraflar siyah-beyaz, net ve parlak fotoğraf kağıdına basılmış olmalı (9 x 13 cm) yada bilgisayarda JPG, TIFF ve GIF formatında hazırlanmış şekli gönderilmelidir. Renkli fotoğraflar ve fotokopileri kabul edilmez.
6. Orijinal araştırma çalışmaları, konu başlığı, yabancı dilde başlık, yazar / yazarların adları, Türkçe özet ve anahtar kelimeler, yabancı dilde özet ve anahtar kelimeler, giriş, materyal ve metot, bulgular, tartışma ve sonuç, kaynaklar sırası ile hazırlanmalıdır. Ayrıca metnin sonuna sayfa üst bilgisi için konuyu açıklayıcı birkaç kelimeden ibaret kısa bir başlık belirtilmelidir. Yabancı dilde yapılacak yayınlarda da aynı sıra takip edilmelidir.
7. **Konu başlığı**, kısa ve açık olmalı ve büyük harflerle Türkçe ve İngilizce olarak yazılmalıdır.
8. Yazar / yazarların ad ve soyadları, ünvan belirtilmeksizin yazılmalı ve yazar soyadlarına konacak rakamlar ile yazarların ünvanları, çalıştıkları kurum adresleri ve makale hakkında notlar birinci sayfanın en altında dipnot olarak belirtilmelidir.
9. **Özet,** Türkçe ve yabancı dilden 200 kelimeyi geçmeyecek şekilde hazırlanmalı ve alt kısımlarına Türkçe ve yabancı dilden anahtar kelimeler yazılmalıdır.
10. **Giriş** bölümünde çalışma ile doğrudan ilgili kısa literatür bilgiler verildikten sonra, son paragrafta çalışmanın amacı vurgulanmalıdır.
11. **Materyal ve Metot** bölümünde materyallerin nasıl ve ne şekilde toplandığı ve saklandığı ayrıntılı olarak yazılmalıdır. Bu bölümde, bilinen klasik metotlar için gereksiz ayrıntıya girmeden öz ve anlaşılır biçimde bilgi verilmeli, yeni yöntemler ise ayrıntılı şekilde açıklanmalıdır.
12. **Bulgular** araştırmanın niteliğine göre mantıklı bir sıra içinde verilmeli ve kısa bir şekilde açıklanmalıdır.
13. **Tartışma ve sonuç** bölümünde veriler, konuyla ilgili diğer kaynaklardaki bulgular ile karşılaştırılmalı ve yorumlanmalıdır.
14. **Kaynaklar** bölümünde, yazı içinde yer alan tüm kaynaklar alfabetik sıraya göre yazılmalıdır. Metin içerisinde her kaynağa ait numara, ilgili olan cümlenin sonunda parantez içinde belirtilmelidir. Kaynak yazımında yazar adları kalın, yayın adı italik yazı karakteri ile yazılmalıdır. Dergi adlarının kısaltılmasında "Periodical Title Abbreviations: By Abbreviation" son baskısı esas alınmalıdır.

Süreli Yayın:
Alterkuse, S.F., **Hunt, J.M.**, **Telleffson, L.K. and Madden, J.M.** (1995) *Food and animal sources of human Campylobacter jejuni infection*. JAVMA, 204 (1): 57-61.

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

Yazarlı kitap:
Stahr, H. M. (1977*) Analytical Toxicology Methods Manuel.* pp: 39-46. Iowa State Univ. Press, Ames, USA.

Editörlü Kitap:
Editörlü kitapta bölüm (önce yazar / yazarlar, alındığı bölüm ve sayfalar, daha sonra editör, alındığı kitap adı, basımevi ve basımyeri) yazılmalıdır.

Popoff, **M.** (1984) *Aeromonas*. 545 –546. In: Krieg, M.R., Holt, J. G. (Eds): Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol.1, Williams and Wilkins, Baltimore, London.

Kongre bildirisi:
Entrala, E. and Mascaro, C. (1994) *New structural findings in Cryptosporidium parvum oocysts.* Eighth International Congress of Parasitology (ICOPA VIII), October 10-14, İzmir, Turkey.

Tez:
Türe, O. (1991) *Studies on the viral proteins of infectious bursal disease viruses*. Doktora Tezi, The Ohio State University, Columbus, OH, USA.

15. Son sayfada yazara ve araştırmaya yardımcı olan kişi ve kuruluşlara ilişkin bilgiler ve teşekkür yazıları yer alabilir.
16. Gönderilen makalelere tüm yazarlar tarafından imzalanmış Telif Hakkı Devir Sözleşmesi eklenmelidir.
17. Hayvan deneylerine dayalı bilimsel çalışmalarda Etik Kurul Onayı aranır.
18. Dergide yayımlanan makaleler ile ilgili her türlü sorumluluk yazarlarına aittir. Yayın kurulunun yayınla ilgili kararı yazara/yazarlara bildirilir. Yayınlanması uygun olmayan yazılar yazara/yazarlara iade edilmez
19. Yazarlara telif ücreti ödenmez.

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

GUIDELINES FOR THE JOURNAL OF BORNOVA VETERINARY CONTROL AND RESEARCH INSTITUTE

1. This journal is the scientific publication of the Bornova Veterinary Control and Research Institute Directorate which is published once a year. The designation of the journal is Journal of Bornova Vet. Cont. Res. Inst.
2. In the journal, original scientific research papers, review articles, and case reports related to Veterinary Medicine and information related to the activities of the institute which are written in Turkish or in a foreign language (preferably in English) are published. The manuscripts, in part or as a whole should not have been previously published elsewhere. The review articles are accepted for publication only if they are original and consists of the latest developments and are not the repetition of the classical information.
3. The manuscripts should be written on a A4 type (210x297mm) white paper using double space and 12 pt letters. The margins should be as follows: 2.5cm from the top and the left side and 2 cm from the right side and the bottom of the page. Including the figures and the tables, the manuscripts should not exceed 15 pages for the original articles, 10 pages for reviews and 5 pages for the case reports.
4. The manuscripts should be written in Microsoft Word program and submitted one original and two copies along with a diskette that has the manuscript. The copies should not include the name of the author and any other information related to the author.
5. Tables, figures and graphs: Each table, figure and graph, along with their legends and footnotes should be written with double space as shown in the example (Table 1, Table 2) on a separate sheet according to the sequence they were used in the text. The tables must be prepared in table format of the Word program and should be included in the manuscript diskette. The photographs should be black and white and printed on a high quality glazed paper (9x13) or the JPG, TIFF and GIF formatted computer preparations should be sent. Color prints of the photographs or their copies are not accepted.
6. Original research papers; the title of the article in Turkish and in a foreign language, author/authors' names, summary in Turkish, keywords, summary in English and keywords, introduction, materials and methods, discussion and results, references should be prepared in this order. Also a short title describing the subject should be given at the end of the article for a running head at the top of the page. The same order should be followed in manuscripts that will be published in a foreign language.
7. **Title of the article**: It should be short, clear and written with capital letters in Turkish and in English.
8. The names of the author/authors should be written without mentioning their academic degrees. The academic degrees of the authors, the affiliations and work addresses and the notes about the article should be indicated as a footnote at the bottom of the first page by pointing the last name of the authors with different numbers.
9. **Summary:** It should be prepared in Turkish and in English and should not be more than 200 words. The keywords should be included at the end, both in Turkish and in English.
10. **Introduction:** In this section, a short literature information directly related to the work should be given and the objectives of the study should be emphasized at the last paragraph.
11. **Materials and Methods:** In this section, detailed information on how the materials were collected and stored should be written. The commonly used classical methods should be stated briefly and clearly without giving detailed information, however the new techniques should be described in detail.
12. **Results:** According to the nature of the research, the results should be presented in logical order and should be explained briefly.
13. **Discussion and Results:** In this section, the data should be compared with the results of the other references related to the subject and interpreted accordingly.

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

14. **References:** The references that are cited in the text should be listed in alphabetical order. In the text, the number belonging to each reference should be cited in paranthesis at the end of the sentence. While forming the reference list, the names of the authors should be written in bold and the name of the reference in *italic* characters. For the designations of the journals, the latest eddition of the Periodical Title Abbreviations; By Abbreviation should be referred.

Periodicals:
Alterkuse, S.F., Hunt, J.M., Tellefson, L.K. and Madden, J.M. (1995) *Food and animal sources of human Campylobacter jejuni infection.* JAVMA, 204 (1): 57-61.

Book with Author:
Stahr, H.M. (1977) *Analytical Toxicology Methods Manuel*. pp: 39-46. Iowa State Univ. Press, Ames, USA.

Book with Editor:
In books with editor, the author/authors, the section and the pages that the information is taken, the editor, the book that this section belongs to, the publisher and the place to be printed should be written.

Popoff, M. (1984) *Aeromonas.* 545-546. In: Krieg, M.R., Holt, J.G. (Eds): Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 1, Williams and Wilkins, Baltimore, London.

Congress Papers:
Entrala, E. and Mascaro, C. (1994) *New structural findings in Cryptosporidium parvum oocysts.* Eighth International Congress of Parasitology (ICOPA VIII), October 10-14, İzmir, Turkey.

Thesis:
Türe, O. (1991) *Studies on the viral proteins of infectious bursal disease viruses*. Ph. D. Thesis, The Ohio State University, Columbus, OH, USA.

15 Information and acknowledgements related to the people and institutions that helped to the author and to research can take place at the last page.

16. The papers must be submitted with a Copright Release Form signed by all authors.

17. The scientific articles on animals must be submitted with an Ethic Committee approval.

18. All responsibilities on the papers published in the journal belong to the authors. The decision of the editorial board is notified to the author of the manuscripts. The papers that were not approved for publication are not returned to the author.

19. Copright fee is not paid to authors.

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

TELİF HAKKI DEVİR SÖZLEŞMESİ
Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Dergisi

Makalenin Başlığı:.....
.....
.....

Yazar/Yazarlar ve tam isimleri: .....
.....
.....
.....

Yayından sorumlu yazarın adı-soyadı, adresi ve iletişim bilgileri:.....
.....
.....
.....
.....

Biz aşağıda ad-soyad ve imzaları bulunan yazarlar, yukarıda başlığı belirtilen makalemizin tarafımızdan yapılmış özgün bir çalışma olduğunu, başka bir dergide yayınlanmadığını ve yayına sunulmadığını, bütün yazarların gönderilen makaleyi gördüğünü garanti ederiz ve makalenin tüm sorumluluğunu üstleniriz.

Aşağıdaki maddelerde belirtilen haklarımız saklı kalmak kaydı ile makalenin telif hakkını Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Dergisi'ne devrettiğimizi taahhüt ve imza ederiz.

a) Telif hakkı dışındaki patent hakları,
b) Yazarların ders, kitap gibi çalışmalarında, sözlü sunumlarında ve konferanslarında makaleyi ücret ödemeksizin kullanabilmeleri,
c) Satış amaçlı olmayan kendi faaliyetleri için makaleyi çoğaltmaları.

Bu belge tüm yazarlar tarafından imzalanmalıdır. Belgenin bağımsız kopyaları farklı kuruluşlarda bulunan yazarlar tarafından imzalanabilir. Fakat tüm imzalar özgün olmalıdır.

Yazarların Adı-Soyadı	İmza	Tarih
.....		
.....		
.....		
.....		
.....		

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

Copyright Release

Journal of Bornova Veterinary Control and Research Institute

Manuscript title:.....
.....
.....

Full names of all authors: .....
.....
.....
.....

Name, address and contact information of corresponding author:.....
.....
.....
.....
.....

We, the undersigned author/authors, warrant that the manuscript with the above mentioned title is an original work, has not been previously published and is not being submitted for publishing elsewhere, and that all authors have seen and approved the manuscript as submitted. We, all authors participated in the work, accept responsibility for releasing the work.

We, the undersigned author/authors, stipulate and sign that coprigth of the above mentioned manuscript is transferred to Journal of Bornova Veterinary Control and Research Institute, effective on acceptance for publishing, except for all proprietary rights other than copyright, such as

a) patent rights,
b) to use, free of charge, this article for the author's future works in books, lectures or oral presentations,
c) the right to reproduce the article for their own purposes, provided that the copies are not offered for sale.

This copyright form must be signed by all authors. Separate copies of the form may be submitted by authors located at different institutions. However, all signatures must be original.

Authors Name and Surname	Signature	Date
.....		
.....		
.....		
.....		
.....		

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com

DANIŞMA KURULU/ADVİSORY BOARD

Prof.Dr. Ferda AKAR Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
Prof.Dr.Yılmaz AKÇA, Ankara Üniversitesi,Veteriner Fakültesi
Prof.Dr. Arif ALTINTAŞ, Ankara Üniversitesi,Veteriner Fakültesi
Prof Dr. Nejat AYDIN, Ankara Üniversitesi,Veteriner Fakültesi
Prof.Dr.İbrahim BURGU, Ankara Üniversitesi,Veteriner Fakültesi
Prof.Dr.Haşmet ÇAĞIRGAN, Ege Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi
Prof Dr. Tayfun ÇARLI, Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
Prof Dr. Meltem ÇETİN, Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
Prof.Dr. Bilal DİK, Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
Prof.Dr.Ahmet DOĞANAY, Ankara Üniversitesi,Veteriner Fakültesi
Prof Dr. Hasan EREN, Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
Prof.Dr. Hüdaverdi ERER, Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
Prof.Dr.Osman ERGANİŞ, Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
Prof.Dr.İrfan EROL, Ankara Üniversitesi,Veteriner Fakültesi
Prof..Dr.Ulvi Reha FİDANCI, Ankara Üniversitesi,Veteriner Fakültesi
Prof.Dr.Ayhan FİLAZİ, Ankara Üniversitesi,Veteriner Fakültesi
Prof.Dr.Merih HAZIROĞLU, Ankara Üniversitesi,Veteriner Fakültesi
Prof.Dr.Rıfkı HAZIROĞLU, Ankara Üniversitesi,Veteriner Fakültesi
Prof. Dr.Zafer KARAER, Ankara Üniversitesi,Veteriner Fakültesi
Prof.Dr.Sezai KAYA, Ankara Üniversitesi,Veteriner Fakültesi
Prof.Dr. Kamil ÖCAL, Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
Prof.Dr. Aytekin ÖZER, Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
Prof.Dr. Edip ÖZER, Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
Prof.Dr.Ayhan ÖZKUL, Ankara Üniversitesi,Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Sadettin TIPIRDAMAZ, Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
Prof.Dr.Şinasi UMUR, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Sibel YAVRU, Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi

Enstitümüz Uzmanları Danışma Kurulunun diğer üyeleridir.

*İsimler soyadına göre alfabetik sırayla yazılmıştır.

This PDF was created using the Sonic PDF Creator.
To remove this watermark, please license this product at www.investintech.com