

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

**İNFEKSİYÖZ BURSAL HASTALIK
(IBD-GUMBORO HASTALIĞI) VİRUSU
İNOKÜLE EDİLMİŞ KAZ (ANSER ANSER)
EMBRİYOSUNDA MORFOLOJİK BULGULAR**

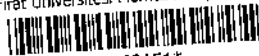
DOKTORA TEZİ

Yesari ERÖKSÜZ

**F. Ü. VETERİNER FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Nursal METİN**

Fırat Üniversitesi Merkez Kütüphanesi



0068151

255.07.02.03.00.00/08/0068151

VE D/58.

#0085148

FIRAT ÜNİVERSİTESİ
Kütüphane ve Dokümantasyon
DAİRE BAŞKANLIĞI
Demirbaş No : 79.563

ELAZIĞ - 1996

35

D. T.
SAĞ. BİL.

İ Ç İ N D E K İ L E R

Sayfa No.:

ÖNSÖZ	I
1. GİRİŞ	1
1.1. İnfeksiyöz Bursal Hastalık (Infectious Bursal Disease-IBD) ve Tarihçesi	1
1.2. İnfeksiyöz Bursal Hastalığın Patogenezi	3
1.3. IBD'nin İmmunosupresif Özelliği	4
1.4. IBD'nin Doğal ve Deneysel Konakçıları	5
1.5. IBDV'nun Özellikleri	6
1.6. Doğal ve Deneysel IBD Olaylarında Lenfoid ve Diğer Organlarda Gözlenen Morfolojik Lezyonlar	6
1.7. İnfeksiyöz Bursal Hastalık Virüsü'nün Kanatlı Embriyolarında Meydana Getirdiği Morfolojik Lezyonlar	9
1.8. Bursa Fabricius	11
1.8.1. Bursa Fabricius'un fizyolojik işlevleri	11
1.8.2. Bursa Fabricius'un morfolojik yapısı	11
2. MATERYAL VE METOT	17
3. BULGULAR	20
3.1. Makroskobik Bulgular	24
3.1.a. Sarıkese yoluyla virus inokule edilen embriyo gruplarında gözlenen makroskobik bulgular	24
3.1.b. Allantois boşluğuna virus inokule edilen embriyo gruplarında gözlenen makroskobik bulgular	27
3.1.c. Enfekte palazlarda gözlenen makroskobik bulgular	29
3.2. Mikroskobik Bulgular	29
3.2.a. Sarı kese yoluyla enfekte edilen embriyo gruplarında gözlenen mikroskobik bulgular	29
3.2.b. Korioallantoik boşluk yoluyla virus inokule edilen embriyo gruplarında mikroskobik bulgular	33
3.2.c. Enfekte palazlarda gözlenen mikroskobik bulgular	35
4. TARTIŞMA VE SONUÇ	36
5. RESİMLER	48
6. KAYNAKLAR	67
7. ÖZET	77
8. SUMMARY	80
9. TEŞEKKÜR	83
10. ÖZGEÇMİŞ	84

ÖNSÖZ

Benzer bağışıklık fonksiyonlarını üstlenmekle birlikte, kanatlı ve memeli türlerinde lenfatik sistem, bazı morfolojik ve yapısal farklılıklara sahiptir. Bunlardan en önemlisi kanatlılarda bursa Fabricius (BF) olarak bilinen lenfoepitelyal bir organın varlığıdır. Embriyonal yaşamın erken dönemlerinden başlayarak; humoral bağışıklık sisteminin esasını oluşturan B lenfositlerin gelişim, olgunlaşma, çoğalma ve migrasyon faaliyetleri anılan organda gerçekleşir. Bu nedenle, BF humoral bağışıklık sisteminin oluşumunda ve gelişiminde anahtar bir rol üstlenir. Ayrıca BF, onuncu haftadan itibaren memeli lenf düğümlerine benzer şekilde periferik bir lenfoid organ olarak da görev yapar ve bu fonksiyonunu da onbeşinci haftada başlayan involusyon sürecine dek sürdürür (2, 16, 17, 21-24, 73, 81-83, 98, 104, 106).

İnfeksiyöz Bursal Hastalık (Gumboro Hastalığı, Infectious Bursal Disease - IBD) ise kanatlılarda sebep olduğu mortalite ve verim kayıplarının yanı sıra lenfoid organların ve özellikle de BF'nin nekrozuna, dolayısıyla erken involusyonuna (atrofisine) neden olan viral bir hastalıktır. Hastalık sonrası şekillenen bursal atrofisinin bir komplikasyonu olarak gelişme gerilikleri ile şekillenen immunosupresyona ilgili olarak aşılamalardan beklenen sonuçların alınamamasının yanı sıra sekonder bakteriyel, viral, mikotik ve paraziter hastalıkların görülme insidensi de artar (1, 8, 13, 15, 43, 51, 56, 57, 63, 71, 87, 100). Hastalık iki haftalıktan küçük piliçlerde şiddetli immunosupresyona neden olurken, klinik olarak şekillenememektedir (40, 75).

Son yıllardaki doğal salgınlarda, hindi ve ördeklerden de IBDV'nun izole edilmesi ve bu isolatların farklı bir serotip (Serotip II) olduğunun gösterilmesiyle (50, 53), diğer kanatlı türlerinde de hastalığa ilgili çalışmaların (68, 93, 108, 110, 113) yoğunlaştığı görülmektedir. Buna karşın, yapılan literatür taramalarında, kazlarda ve kaz embriyosunda IBDV ile doğal ya da deneysel enfeksiyona ilişkin bir araştırmaya rastlanamamıştır. Serolojik olarak yapılan bir çalışmada ise, kaz serumlarında bu virus ile reaksiyon veren antikorların tespit edilemediği bildirilmiştir (64).

Bu çalışma ile, IBDV'nun farklı kuluçka günlerinde ve farklı yollardan inokülasyonu sonrası kaz (Anser anser) embriyolarında oluşan makroskobik ve mikroskobik değişimlerin ortaya konulması ile bunların diğer kanatlı türlerinde yapılan deneysel enfeksiyonlardan elde edilen bulgularla karşılaştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca hastalıkta BF hedef organ olduğundan, organın embriyolojik gelişimi ile immunolojik işlev ve öneminin ayrıntılı olarak ele alınması gerekli görülmüştür. BF dışında, timus, dalak ve Harder bezi gibi lenfoid organlar ile diğer organ ve dokuların gelişimine virusun etkileri araştırılmıştır.

1. GİRİŞ

1.1. İnfeksiyöz Bursal Hastalık (Infectious Bursal Disease-IBD) ve Tarihçesi

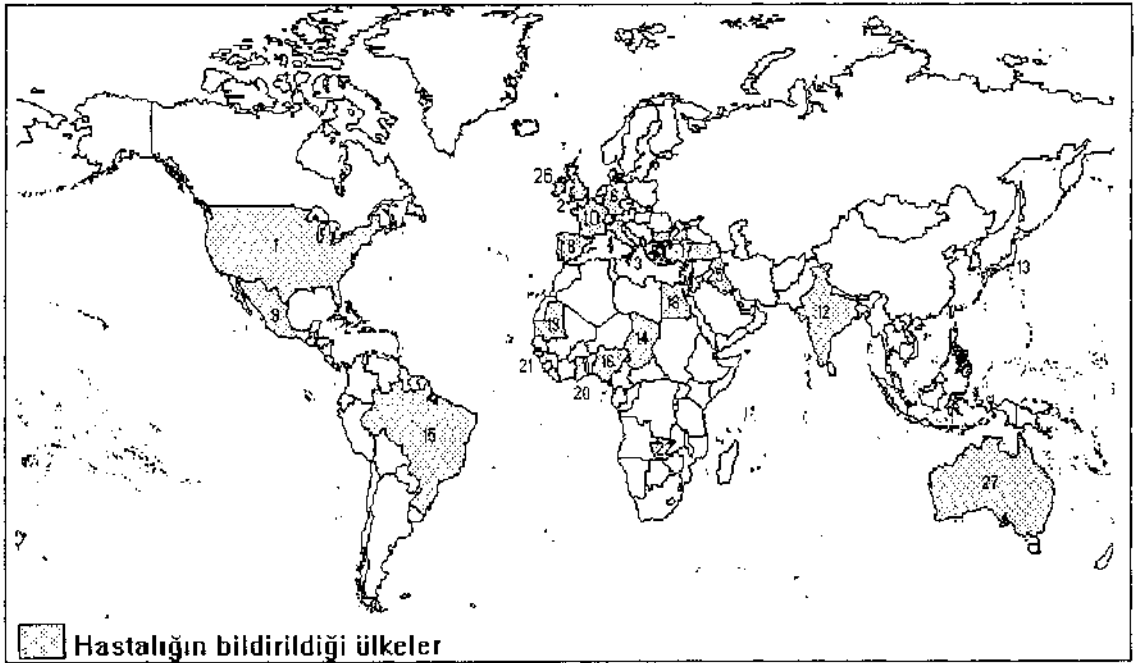
IBD; klinik belirti, makroskopik ve mikroskopik bulgularıyla ilk kez 1962 yılında Amerika Birleşik Devletleri, Güney Delaware eyaletinin, Gumboro kasabasında bildirilmiştir. İlk çıktığı yerin ismine atfen "**Gumboro Hastalığı**" olarak isimlendirilmiştir. O zamanki adıyla **Gumboro**; ishal, iştahsızlık, durgunluk, titreme, yüzü koyun yere yatma gibi klinik belirtiler ve % 1-15 ölümle seyreden bir hastalık olarak tanımlanmıştır. Mikroskopik olarak böbrek tubulus epitel hücrelerinde saptanan parankim dejenerasyonu nedeniyle, hastalık "**avian nefrozis**" olarak da isimlendirilmiştir. Aynı yıl bölgede iki farklı virus izole edilerek, bunlardan birinin İnfeksiyöz Bronşitis olduğunun anlaşılmasıyla, diğer viral etken üzerinde çalışmalar yoğunlaşmıştır (1, 26, 64, 76). Sonraki yıllarda, dünyanın yirmiyedi ülkesinde ve farklı kanatlı türleriyle, ratlarda hastalığın varlığı bildirilmiştir [(Tablo 1) (50, 53, 64, 112)]. 1971 yılında ise hastalığa ilişkin patognomonik lezyonların **BF**'ta görülmesi nedeniyle ve karışıklıkların önlenmesi amacıyla **İnfeksiyöz Bursal Hastalık (Infectious Bursal Disease - IBD)** adı önerilmiştir (15).

Ülkemizde **IBD**'nin varlığı ilk kez Adana ve daha sonra Elazığ, Gaziantep, Samsun, Kayseri illerinde 1978 yılında kaydedilmiştir (36). Konya bölgesinde yapılan bir serolojik taramada **IBD**'nin diğer birçok kanatlı hastalığına (İnfeksiyöz Bronşitis, İnfeksiyöz Laringotrakeitis, Avian Ensafalomyelitis, EDS-76) göre tavuklarda daha yaygın olarak bulunduğu bildirilmiş ve yüzonaltı ayrı kümeden sağlanan serum örneklerinin muayenesi sonucu hastalığın insidensinin % 39.5 oranında olduğu ortaya konulmuştur (3).

Ege bölgesinde yürütülen bir serolojik araştırmada ise incelenen yetmiş-dokuz adet kümeden altmışbir tanesi (% 77.2) **IBD** yönünden pozitif bulunmuş olup ayrıca bu kümeslerden kırküçünde Reovirus, kırkikisinde Adenovirus, yirmiikisinde de Newcastle virusuna ait antijenlerin varlığı ortaya konulmuştur (8). Benzer şekilde aynı bölgede hindi sürülerinde yapılan serolojik bir çalışmada ise hastalığın % 1 oranında bir insidense sahip olduğu tespit edilmiştir (24).

Tablo 1: Hastalığın piliçlerde*, hindi ve ördeklerde, yabani su kuşlarında*** ve ratlarda**** tespit edildiği ülkeler, inceleyen araştırmacılar ve yeryüzündeki dağılımı [Okoye'den (64) değiştirilerek alınmıştır].**

ÜLKE ADI	ARAŞTIRICI - ARAŞTIRICILAR	ÜLKE ADI	ARAŞTIRICI - ARAŞTIRICILAR
1. A. B. D.	*Gosgrove (1962)	15. Brezilya	*Nakona ve ark. (1972)
2. İngiltere	*Maff Report (1964)	16. Nijerya	*Ojo ve ark. (1973)
3. İtalya	*Rinaldi ve ark. (1965)	17. Türkiye	*Kandil (1973)
4. Belçika	*Devos ve ark. (1966)	18. Mısır	*Ayaub ve Malek (1976)
5. İsrail	*Meroz (1966)	19. Moritanya	*Chamoisea (1977)
6. Almanya	*Landgraf ve ark. (1967)	20. Gana	*Giyenink (1977)
7. İsviçre	*Riggenbach (1967)	21. Senegal	*Sagna (1977)
8. İspanya	*Badiola ve ark. (1969)	22. Zambiya	*Sharma (1977)
9. Meksika	*Giron (1969)	23. Bulgaristan	*Lyutskanov (1978)
10. Fransa	*Maire ve ark. (1969)	24. Avusturya	*Vasicek (1979)
11. Yugoslavya	*Herceg ve ark. (1971)	25. Irak	*Mohanty (1981)
12. Hindistan	*Mohanty ve ark. (1971)	26. Kuzey İrlanda	**McFerran ve ark. (1982)
13. Japonya	*Shimuzu ve ark. (1971)	27. Avusturalya	***Wilcox (1983)
14. Çad	*Provost ve ark. (1972)	28. Nijerya	****Okoye ve ark. (1986)



1.2. İnfeksiyöz Bursal Hastalığın Patogenezi

IBD, 3-6 haftalık piliçlerde akut, diğer yaş gruplarında ise genellikle subklinik seyirli bulaşıcı viral bir enfeksiyondur (1, 15, 26, 43, 48, 75). Virusun izolasyonundan sonra, hastalığın duyarlı piliçlerde oluşturulması ve patogenezi ile ilgili çalışmalarda, hastalıkta hedef organın **BF** olduğu ortaya konulmuştur (13, 14, 26, 37, 40, 43, 48, 49, 55, 65, 70).

Hastalık salgınları en erken dokuz günlük civcivlerde ve en geç olarak da yirmi haftalık tavuklarda bildirilmiştir (11). Doğal enfeksiyonlarda etken ağız yoluyla vücuda girdikten sonra, bağırsak kanalında, özellikle sekumun makrofaj ve lenfoid hücrelerinde çoğalarak Vena porta ile karaciğere ulaşır. Kupffer hücreleri tarafından fagosite edilen virus, ikinci bir viremi ile **BF** da dahil olmak üzere tüm organlara yayılır. **BF**'ta etken esas olarak lenfoid hücrelerde çoğalmakla birlikte, elektronmikroskopik çalışmalar ile viryonların makrofaj, heterofil granülosit, retikulum hücreleri ve retikuloepitelyal hücrelerde de replike olabileceği ortaya konulmuştur. Virusun hızla çoğalması, bursal lenfositlerin nekrozuna neden olur. Lenfoid hücrelerin erken dönemlerde ve kolayca nekroza uğramalarına karşın, makrofaj ve retikulum hücreleri yüksek lizozomal aktiviteleri nedeniyle nekroza dayanıklıdır. Virusun, lenfositler lizis sonrası serbest hale geçmesiyle ve virus taşıyan hücrelerin makrofaj, retikulum hücreleri ile heterofil granülositler tarafından fagosite edilmesiyle de etken **BF** içerisinde taşınır (1, 4, 14, 40, 43, 48, 49, 54, 64, 88, 91).

2-21 günlük SPF (Specific Pathogen Free) piliçlerin deneysel enfeksiyonlarında etkenin inokülasyon sonrası 1-10. günlerde feçes ile atıldığı ve inokülasyon sonrası 5-10. günlerde enfektelerle birlikte bulundurulmuş piliçlerde horizontal bulaşmanın mümkün olabileceği ileri sürülmüştür (47, 101, 102). Doğrudan temas dışında su, yem, atık gibi materyallerin yeniden kullanılması ve insektlerin, yaban kuşları ile kemirgenlerin hastalığın taşınmasında rol oynayabileceği kaydedilmiştir (57, 67, 112).

İnfeksiyona duyarlı esas hedef hücrelerin bursal B lenfositler olduğu ortaya konulmuş (32, 35, 92) olup, klinik seyirli, akut enfeksiyonun şekillenebilmesi ile **BF**'taki B lenfositlerin sayısı arasında bir korelasyon bulunduğu saptanmıştır (14). Benzer şekilde, diğer bir çalışmada da deneysel enfeksiyonlarda patolojik lezyonların şekillenebilmesi için, dört haftalık piliçlerde **BF**'ta en az 62.5×10^6 adet lenfosit bulunması gerektiği ileri sürülmüştür (34).

IBDV ile infeksiyon denemelerinde dört haftalık SPF piliçlerde, % 100 mortalite ile makroskobik ve mikroskobik değişimler tespit edilmiştir. **BF**'un kuluçkadan sonraki erken dönemlerde ekstirpasyonu ya da kimyasal maddelerle gelişiminin önlenmesinden sonraki infeksiyon denemeleri de klinik olarak infeksiyonun şekillenmesi için **BF**'un gerekli olduğunu göstermiştir (88). Embriyolojik bursektomi uygulanmış dört haftalık piliçlerin deneysel infeksiyonlarında ise hastalık ne klinik, ne de serolojik olarak oluşturulamamıştır (70). Farklı yaş gruplarındaki piliçlerin ve tavuk embriyolarının deneysel infeksiyonlarında, tüm deneme gruplarının kan ve dokularındaki IgM düzeylerinin düştüğü ortaya konulmuş ve hedef hücrelerin IgM yüzey antijeni taşıyan B lenfositler olduğu kaydedilmiştir (28-32, 34, 35).

Hastalığa ilgili klinik semptom ve ölümlerin, 3-6 haftalık piliçlerde daha şiddetli seyrettiği konusuna açıklık getirilememiştir. Bazı araştırmacılar 3-6 haftalık piliçlerde **BF**'un, diğer yaş gruplarına göre daha büyük olması nedeniyle, daha fazla nekrotik kitlenin oluştuğunu ve nekrotik kitledeki doku tromboplastinlerinin kana karışmasıyla, kanın pıhtılaşma mekanizmasını bozarak kanamaların ve klinik semptomların şekillendiğini bildirmişlerdir (14, 34, 88). Hemorajilerin patogenezisini immun kompleks oluşumuna dayandıran araştırmacılar ise, **IBDV**'una karşı nötralizan antikörlerin 3-6 haftalıkta daha yüksek titrede olduğunu vurgulamışlardır (95). Ancak, daha sonraları bu yönde yapılan bir çalışmada deneysel **IBDV** infeksiyonlarında Arthus tipi bir reaksiyona rastlanmadığı ifade edilmiştir (66). Gerçekte de yetişkin kanatlılarda memelilere benzer şekilde Arthus tipi bir reaksiyonun varlığı da tartışmalıdır (103, 104). Ancak, kanatlı embriyolarında, Arthus benzeri reaksiyonların varlığı ve histopatolojik olarak şekillendirdiği lezyonlar uzun yıllardan beri bilinmektedir (109).

1. 3. **IBD**'nin İmmunosupresif Özelliği

İlk kez deneysel **IBD**'nin histopatolojisi üzerine çalışan araştırmacılar (1964), **BF**'taki granülom ve dalaktaki fibrinoid nekrozların lenfositlerin antikör salgılarını olumsuz yönde etkileyebileceğini ileri sürmüşlerdir (26). Daha sonraları yapılan çalışmalarda, önceden **IBDV** inokule edilmiş piliçlerde Marek Hastalığı'ndaki sinir lezyonlarının daha şiddetli seyrettiğini ayrıca gerek doğal ve gerekse deneysel infeksiyonlarda Mycoplasma synovia, Infectious bronchitis, Infectious laryngotracheitis, Eimeria türleri, Salmonella typhimurium, Escherichia coli, Aspergillus spp., Spirochaetae spp. gibi etkenlere bağlı hastalıkların insidens ve mortalitelerinin arttığı bildirilmiştir (1, 8, 20, 28, 63, 71, 87, 100, 103).

Kimi araştırmacılar **IBD**'de, hücrel bağışıklık sisteminde de bir supresyon şekillendiğini ve bunun da timusta oluşan korteks atrofisine ilgili olduğunu ileri sürmüşlerdir (27, 33). Bazı araştırmacılar ise, hastalıkta timusta şekillenen değişimlerin (korteks atrofi) aktif viral enfeksiyona ve replikasyona ilgili olmadığını, sistemik bir reaksiyonun sonucu olduğunu savunmuşlardır (91). Gerçekten de bu yönde yapılan çalışmalar, virusun sadece viremi safhasında timusta bulunduğunu göstermiştir (92). Bu konuda yapılan diğer bir çalışmada ise timusta oluşan lezyonların suşlara göre farklılık gösterebileceği kaydedilmiş olup, bazı suşlarda timustaki lenfositlerde apoptozis olaylarının şekillendiği vurgulanmıştır (33).

1.4. IBD'nin Doğal ve Deneysel Konakçıları

IBD genellikle genç piliçlerin bir hastalığı olarak kabul edilmekle birlikte, doğal enfeksiyonlar halinde serolojik olarak hindi (5, 38, 50, 53, 64, 93), sülün ve ördeklerde de (50) tespit edilmiştir. Bazı ülkelerde tavuklarda görülen salgınlar sırasında serçelerin de öldüğü bildirilmiştir (61). Hindilerdeki enfeksiyon denemelerinde, nötralize ve presipite edici antikorların varlığı gösterilmekle (24, 38, 50, 53, 93) birlikte, klinik ve patolojik olarak hastalık oluşturulamamıştır (15, 64). Sülünlerin doğal enfeksiyonlara duyarlı olduğu ve % 2-80 oranında mortalite görüldüğü bildirilmiştir (1, 15, 64, 68). Yabani su kuşlarında yapılan bir serolojik çalışmada hastalığa karşı spesifik antikorların varlığı tespit edilmiştir (112). Enfeksiyon denemelerinde bildirilen, güvercin, ördek, Fas Tavuğu dayanıklı bulunmuştur (1, 15, 64, 108, 110). Nijerya ırkı piliçlerin, diğer ırklara göre doğal ve deneysel enfeksiyonlara daha dayanıklı olduğu bildirilmiştir (67). Pekin Ördeklerinin deneysel enfeksiyonlarından hastalık klinik ve patolojik olarak oluşturulamamış, ancak serolojik olarak virusa karşı antikor yanıtının şekillendiği gösterilmiştir (113). Nijerya ırkı ördeklerin deneysel enfeksiyonlarında ise, hastalık patolojik ve serolojik olarak oluşturulamamıştır (69).

Kanatlı embriolarında virusun inokülasyonu ile tavuk (36, 38, 44, 80), ördek (7), Pekin Ördeğinde (39, 113) hastalığa ilgili spesifik makroskopik ve mikroskopik değişimler tanımlanmıştır.

Yeni doğmuş farelerin (5-12 günlük) deneysel enfeksiyona duyarlı olduğu ve histopatolojik olarak nonpurulent bir ensefalomyelitis şekillendiği, yaşlı olanların ise serolojik olarak yanıt verdiği bildirilmiştir (1, 15, 64).

1.5. IBDV'unun Özellikleri

IBDV'unun klasifikasyon ve taksonomisi uzun yıllar tartışmalara konu olmuştur. 1980 yılında **IBDV**'unun yapısal özelliklerinin balık, yumuşakça ve insektlerin bazı virüsleriyle benzerlik gösterdiğinin anlaşılmasından sonra Birnaviridea ailesinden olduğu kabul edilmiştir. Söz konusu virus; zarfsız, ikoizohedral yapıda, otuziki kapsomerli, 20-60 nM. çapında olup, segmentli ve çift sarmal RNA taşır. Virusun dört yapısal ve bir adet de yapısal olmayan proteini mevcuttur. 60 °C'de otuz dakika dayanıklı olan virus, pH 3-9'da canlılığını sürdürür (48, 49, 64, 91, 103). Virusun invitro olarak makrofajlarda, lenfositlerde, tavuk ve ördek embriyo fibroblastlarında çoğalabildiği bildirilmiştir (29, 64, 113).

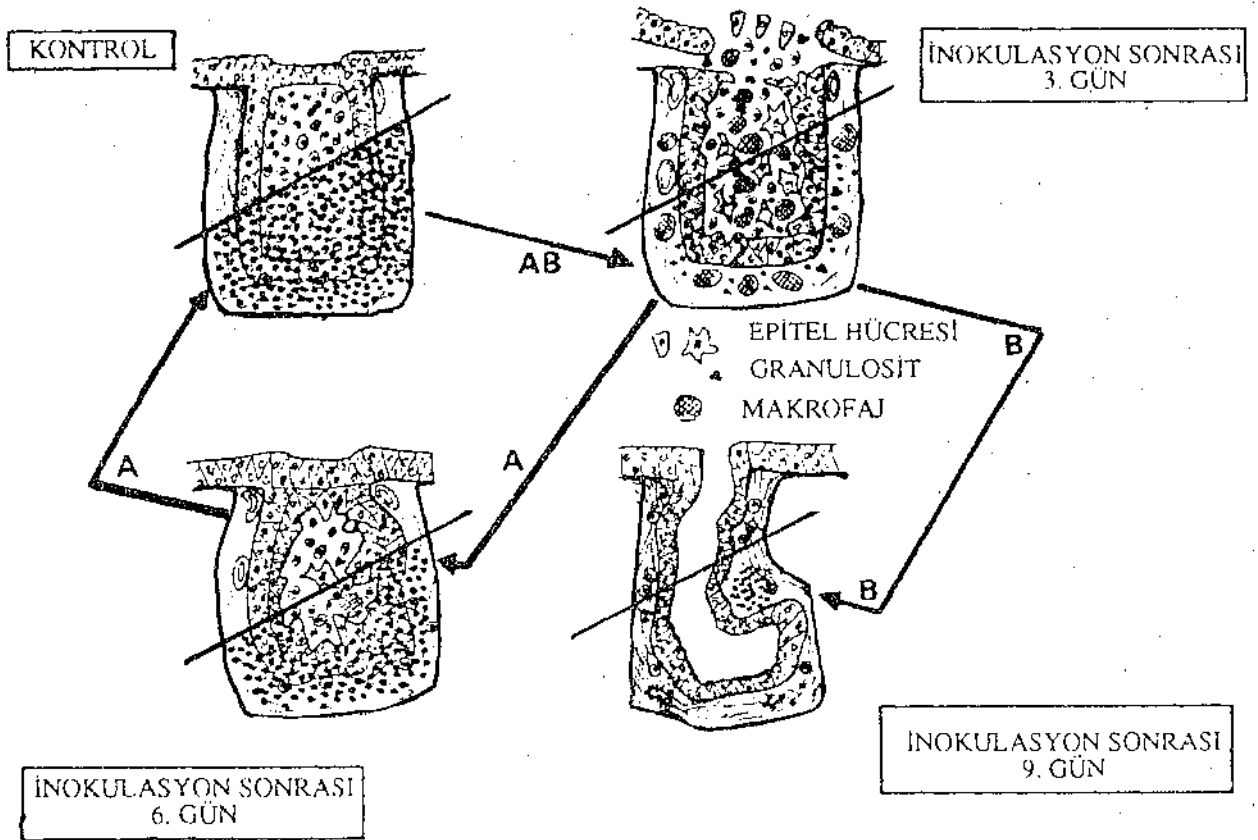
1.6. Doğal ve Deneysel IBD Olaylarında Lenfoid ve Diğer Organlarda Gözlenen Morfolojik Lezyonlar

Piliçlerde **IBD**'ye ilgili araştırmalarda oluşan makroskobik ve mikroskobik lezyonlar birçok araştırmacı tarafından incelenmiştir (4, 6, 9, 10, 14, 26, 27, 42, 65-67, 74, 79, 88-90, 92, 111). Makroskobik ve mikroskobik muayenelerde, **BF** haricinde, diğer organ ve dokularda bildirilen bulgular oldukça farklılık ve çeşitlilik göstermektedir. Doğal ve deneysel infeksiyonlarda (virusun intraoküler inokülasyonu), tüm organlardaki morfolojik lezyonların şiddeti dördüncü inokülasyon gününden itibaren başlayan antikor ve interferon sentezine, dolaşısıyla da virusun nötralizasyonuna bağlı olarak azalmaktadır (6, 47, 59, 60).

BF'ta infeksiyonun ilk günlerinde gözlenen ödem ve hemorajiler ile sonraları kontrollere göre atrofik görünümünün yanı sıra mikroskobik olarak da lenfoid folliküllerde nekroz, lenfosit içeriğinde azalma, interfolliküler bağ doku (stroma) artışı-fibroplazi, folliküler atrofi ile glandular metaplazi birçok araştırmada bildirilen ve üzerinde birleşilen bulgular olmuştur (10, 14, 26, 27, 65-67, 74, 79, 90). **IBDV**'unun genç piliçlere inokülasyonu ile bursal folliküllerde oluşan morfolojik lezyonlar Şekil-1'de şematize edilmiştir.

Bursa epitelinde deskuamasyon, epitel katta kalınlaşma ve kavitasyonlar, interfolliküler heterofil granülosit ve mononükleer hücre infiltrasyonları, nadiren de olsa folliküllerde kısmi rejenerasyon gibi mikroskobik bulgular yapılan çalışmaların sadece bir kısmında bildirilmiştir (48, 49, 55, 80). Bazı araştırmacılar ise, hastalığa ilgili **BF**'taki nekrozların hiçbir zaman tümüyle ve tamamen rejenere olamayacağını ileri sürmüşlerdir (4, 13, 23, 65). **BF** epitelinde görülen deskuamasyonun, lamina propriadaki folliküllerin nekrozu ve boşalmasına bağlı

olduğu, sonraki dönemlerde epiteldeki kalınlaşma ve kavitasyonların ise lenfoid folliküllerin atrofisine bağlı olarak; epitelin bursa yüzeyine adeta bol gelmesiyle şekillendiği ileri sürülmüştür (55, 70). BF'un kortikomedullar epitelinde görülen metaplastik değişimler ise doğal involüsyon sürecinde de şekillendiğinden, nekroz sonrası boşalan folliküllerdeki sekonder değişimler olarak yorumlanmış (70) olmakla birlikte, elektronmikroskopik çalışmalarda folliküler epitel hücrelerinde nadiren de olsa virus partiküllerinin görüldüğü bildirilmiştir (49).



Şekil-1: IBDV'unun dört haftalık piliçlere inokülasyonu sonrası 3-9. günlerde bursal lenfoid folliküllerde oluşan histopatolojik değişimlerin şematik görünümü.

AB - İnokülasyon sonrası üçüncü günde hem epitel ve hem de lenfoid folliküllerde morfolojik lezyonlar şekillenir.

B - Lenfoid follikül tamamen boşalmış ise epitelial ve lenfoid yapılar rejenere olmaz.

A - Lenfoid folliküllerin tamamen boşalmadığı hallerde ise nadiren folliküler ve endodermal epitel ile lenfoid folliküllerde kısmi bir rejenerasyon şekillenebilir (48).

Tablo 2: Piliçlerde Deneysel IBD Olgularında Gözlenen Mikroskobik ve Makroskobik Lezyonların Organ ve Dokulara Göre Dağılımı.

Araştırmacılar	Piliçlerin Yaşı (Gün)	Makroskobik Lezyonlar						Mikroskobik Lezyonlar						
		BF	Dalak	Barsak	Keçir	Böbrek	İst.Kas.	BF	Dalak	Timus	Harder	Keçir	Böbrek	İst.Kas.
1. Cheville ve ark. (4)	28	6.7	6	0	0	0	0	3.9.14.15.18.21	1.18	9.12	-	-	-	-
2. Chu ve ark. (6)	28	6.7.8	7	6	0	13	6	1.2.6.7.14.21.	1	-	-	1.6.7.19	6.13.19	-
3. Dohms ve ark. (9)	21	-	-	-	-	-	-	1.3.5.7.9	-	-	1.6.16	-	-	-
4. Fadly ve ark. (24)	7	0	0	0	0	0	0	1.5.11.21	1.2	-	-	-	-	-
	35	0	0	0	0	0	0	1.5.11.21	2	12	-	-	-	-
	75	0	0	0	0	0	0	1.5.11.21	2	12	-	-	-	-
5. Hazaroğlu ve ark. (25)	35	7.8	0	0	0	0	0	6.7.18.21	1	0	-	0	0	0
6. Helmbold ve ark. (26)	1	6.7.8	0	0	0	0	7	9.10.11.15.21	0	12	-	0	15	-
	21	6.7.8	0	0	0	0	7	6.7.8.10.15.21	1.9	0	-	15	2.13.15	-
7. Henry ve ark. (27)	11	-	-	-	-	-	-	1.4.5.9.21	6.14	6	-	17	4.6.7	-
	19	-	-	-	-	-	-	5.7.8.11.14	1.6.14	1.7.14	-	17	13.14	-
8. Ley ve ark. (43)	35	6.7.8	0	6	0	0	0	1.3.5.7.8.13.14.15	0	0	1	1.15.17.19	13.15.19	0
9. Okoye ve ark. (65, 66)	28	6.7.8	-	-	1.7.8	2.15	1.7.8	3.5.10.11.21	-	1.7.12	-	12.6	1.2.4.6	1.7.8.15
10. Okoye ve ark. (67)	42	6.7.8	0	0	0	-	-	7.8.10	6.14	0	-	0	4	-
11. Okoye ve ark. (70)*	36*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0
	36	6.7.8	0	6	0	7	6	1.3.11.21	9.11	9.11	-	1.2.15.17	1.2.6.15	1.2.6.15
12. Onunkwo ve ark. (74)	49	6.7	7	0	0	13	6	1.3.5.7.11	-	-	-	-	-	-
13. Rampin ve ark. (77)	21	6.7.8	-	-	-	-	-	1.9.11.14	-	-	-	-	-	-
14. Schat ve ark. (88)*	14*	-	-	6	-	-	6	6.7.18	18	12	-	-	-	-
	14	-	-	6	-	-	6	6.7.18	18	12	-	18	-	-
15. Sharma ve ark. (90)	28	0	0	0	0	7	6	1.2.4.5.7.8.9.11.14	2.11	0	-	0	0	-
16. Sivanendan (94)	1	8	0	0	0	0	0	3.4.7.11.14.21	0	0	16	0	0	0
	28	1.6.8	7	0	0	0	0	3.4.5.8.10.21	0	0	16	0	0	0
17. Winterfield (110)	28	6.7.8	-	-	-	-	-	8.9.11.15.21	0	0	0	0	0	0
	35	6.7.8	-	-	-	-	-	8.9.11.15.21	0	0	0	0	0	0

* Deneysel enfeksiyondan önce embriyonal dönemde farmakolojik burssektomi uygulandı.

- Sözü edilen organın makroskobik / mikroskobik muayenesi yapılmadı. 0: Lezyon bildirilmedi. 1: Nekroz. 2: Dejenerasyon. 3: Bursa kortikomedullar epitelinde metaplazi. 4: Epitel deskuamasyonu. 5: BF epitelinde kistik kavitasyonlar. 6: Hemoraji. 7: Ödem. 8: Atrofi. 9: Bazı folliküllerde rejenerasyon. 10: Granulom. 11: Lenfosit içeriğinde azalma. 12: Korteks atrofisi. 13: Ürat kristalleri. 14: Heterofil gnanülosit infiltrasyonu. 15: Mononükleer hücre infiltrasyonu. 16: Plazma hücre içeriğinde azalma. 17: Yağ dejenerasyonu (Lipidozis) 18: İmmunoflorasan + (İnokulasyon sonrası 2-8. günler). 19: Ektopik lenfoid odaklar. 20: Bağdoku artışı (Fibroplazi)

Makroskobik olarak dalakta şekillenen hemoraji ve ödem, bağırsaklarda hemoraji, böbreklerde ürat kristalleri, karaciğerin açık sarı bir renkte görünümü ve bölgesel nekrozları, iskelet kaslarında ödem ile hemorajiler da araştırmaların sadece bir kısmında bildirilen bulgular olmuştur (48,49,55,80).

Tablo-2'nin incelenmesinde de görüleceği üzere çeşitli yaş gruplarındaki piliçlerin deneysel infeksiyonlarında farklı makroskobik ve mikroskobik lezyonların görülmesi, kullanılan virusun suşu, dozu, virulensi, ırk ve yaş faktörleri ile açıklanmıştır (14, 55, 67, 79).

BF dışında timusta nekroz ve korteks atrofisi (14, 26, 27, 67, 70, 74, 88), Harder bezi plazma hücre içeriğinde azalma, bağdoku artışı ve fokal hemorajiler (9, 90, 94), dalakta periarteriol lenfoid folliküllerde nekroz (4, 14, 25, 26, 27), karaciğerde hemoraji ile hepatositlerde nekroz ve yağ dejenerasyonu (lipidozis), böbrek tubulus epitel hücrelerinde dejenerasyon, nekroz ve deskuamasyon, iskelet kaslarında (özellikle iç gluteal kaslarda) hyalin dejenerasyonu ve nekroz ile mononükleer hücre infiltrasyonları ve hemoraji (74, 88) yapılan araştırmaların tümünde bildirilmemekle birlikte, hastalığa özgü mikroskobik bulgular olarak değerlendirilmiştir.

1.7. İnfeksiyöz Bursal Hastalık Virusu'nun Kanatlı Embriyolarında Meydana Getirdiği Morfolojik Lezyonlar

IBDV'unun izolasyonu ve serolojik özelliklerine yönelik ilk çalışmalardan beri maternal antikör bulundurmayan tavuk embriyolarında, virusun çoğaldığı ve patolojik değişimlere neden olduğu bildirilmiştir (18, 19, 44, 81, 89). Virusun embriyoda, korioallantoik membran (KAM) ve allanto-amniotik sıvıdan daha yüksek titrelerde bulunduğu vurgulanmıştır (18-19). IBDV'unun tavuk embriyosuna sarıkese yoluyla inokülasyonu sonrası; 7-9. günlerde % 75, allantoik boşluğa onuncu kuluçka gününde inokülasyonu ile 3-7. günlerde % 95 ölüm görülmüştür. Onikinci kuluçka gününde KAM'a yapılan inokülasyonlarda, ölümün görülmediği ifade edilmiştir (97). Enfekte tavuk embriyolarında makroskobik olarak; BF'ta kanamalar ve ödem, derialtı ödem, vücut'ta yaygın hemorajiler, cücelik, karaciğerde hemoraji ve nekrozlar, kalbin yarı pişmiş bir görünümü, böbreklerde konjesyon ve nekroz ile akciğerlerde şiddetli konjesyonların görüldüğü bildirilmiştir (1, 20, 81,103).

Pekin Ördeği embriyolarında yapılan çalışmalarda ise makroskobik olarak derialtı ve kaslarda ödem ile kanamalar, karaciğerin beyaz-gri çizgilerle karakterize mozaik tarzındaki görünümü ile total olarak yeşilimsi bir rengi ve

cücelik (dwarfism) başlıca makroskobik lezyonlar olmuştur (37, 113). Bildirilen embriyolarına altıncı inkübasyon gününde yapılan inokülasyonların beş gün içerisinde %80-90 mortalite ile karaciğerin başlangıçta şişkin ve hemorajik sonraları açık yeşil rengi ile vücudun muhtelif yerlerinde ödem ve hemoraji (iskelet kasları, BF, dalak, metanefrozlar) ile çok belirgin bir cüceliğin oluşumuna öncülük ettiği saptanmıştır (yayınlanmamış gözlemler). Hint Ördengi embriyosunda yapılan bir diğer çalışmada benzer bulguların görüldüğü ifade edilmiş, ördek embriyolarının tavuk embriyolarına göre daha dayanıklı olduğu ileri sürülmüştür (7). Tavuk embriyolarında yapılan bir çalışmada şekillenen cücelik ve mortalite ile embriyo pasajı arasında bir korelasyon bulunduğu ileri sürülmüştür (81). Virusun kanatlı embriyolarında oluşturduğu makroskobik lezyonların doku ve organlara göre dağılımları ile inokülasyon sonrası günlerde şekillenen ölüm oranları Tablo-3'de özetlenmiştir.

Tablo-3: Farklı kanatlı embriyolarında (tavuk, Pekin Ördengi, ördek) IBD'ye ilgili yapılan çalışmalarda gözlenen makroskobik bulguların doku ve organlara göre dağılımı ile inokülasyon sonrası günlerdeki ölüm oranları.

Araştırmacı (Lit. No)	Kanatlı Türü	İnokul. Günü	İnokul. Yeri	M a k r o s k o b i k B u l g u l a r									Ölüm	
				BF	Dalak	Böbrek	Kas	K. ciğer	Deri altı	K. A. M.	Cücelik			
												%	Günler	
Snedeker (98)	T. Emb.	6. Gün	S. Kese	-	-	-	-	-	1.2	-	+	75	7-9	
	T. Emb.	10. Gün	All. Boş	-	-	-	-	-	1.2	-	+	95	3-7	
	T. Emb.	12. Gün	KAM	-	-	-	-	-	1.2	-	+	0	0	
Levy (44)	T. Emb.	7. Gün	All. Boş	2.3.4	4	4	2.4	5.6.7.8	1.2.4	2.4	+	70	3-7	
Kandil (36)	T. Emb.	7. Gün	All. Boş	-	-	-	-	5	2.4	-	+	100	1-4	
Yamada (113)	P. Ö. E.	14. Gün	S. Kese	1.2.3	-	4	2.4	5.6.7.8	4	2.4	+	75	3-6	
Christopher (7)	Ö. Emb.	12. Gün	All. Boş	-	4	-	-	4.6	-	4	+	10	3-10	
Karadaş (39)	P. Ö. E.	13. Gün	All. Boş	1.2.3.4	4	4	1.2.4	5.7.8	2.4	2.4	-	85	3-10	

(-) Lezyon bildirilmedi, (+) Belirgin bir cücelik şekillendi, (1) Hiperemi, (2) Ödem, (3) Kontrollere göre BF'nin daha küçük görünümü, (4) Kanama, (5) Renk Değişimi, (6) Şişkin görünüm, (7) Nekroz, (8) Karaciğerin mozaik ya da mermer tarzı görünümü.

Tavuk embriyolarında virusun minimal lethal dozu tespit edilmiş olup, embriyonal dönemde aşı suşu kullanılarak aşılama çalışmalarına başlanmış ve olumlu sonuçlar alınmıştır. Embriyonal dönemdeki aşılamalarda daha kuvvetli ve uzun süreli bir bağışıklık yanıtının şekillendiği ortaya konulmuştur. Onsekiz günlük tavuk embriyolarına virus inokülasyonu ile karaciğer, dalak, böbrek, timus, kursak ve akciğerlerden inokülasyon sonrası, yedi gün süreyle virus izole edilebilmiş ve embriyolarda ölüm olaylarına rastlanmadığı ifade edilmiştir (89).

1.8. Bursa Fabricius

1.8.1. Bursa Fabricius'un fizyolojik işlevleri

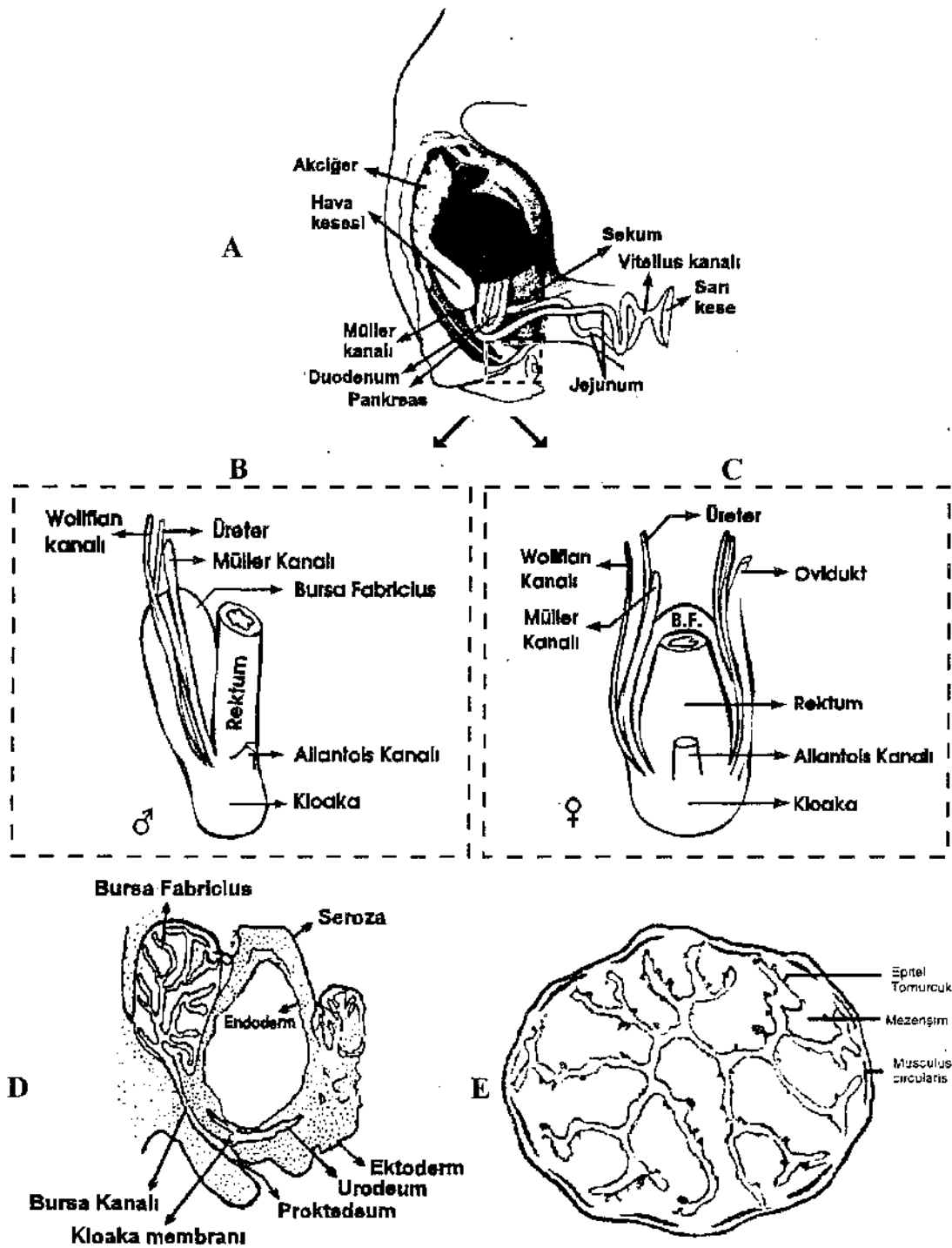
İtalyan araştırmacı Hieronymus Fabricius'un, XVII. yüzyılda kanatlılarda varlığını ilk kez gösterdiği **BF**; birçok embriyolojik, karşılaştırmalı ve deneysel araştırmanın konusu olagelmıştır. Önceleri, **BF**'un çift katlı bir kese ve uterusla iştirakli olduğu sanılarak, spermin fekondasyon gücünü arttırdığı varsayılmıştır. Adıgeçen organın gerçek fonksiyonu ise yaklaşık kırk yıl önce bir grup araştırmacının bursektomi uygulanmış iki haftalık piliçlerde bakteriyel antijenlere karşı antikor yanıtının azaldığını göstermeleriyle anlaşılmıştır (21-24).

Günümüzde, **BF** kanatlılarda antikor sentezleyen B lenfositlerin gelişiminde merkezi fonksiyonlar üstlenen bir organ kabul edilmiştir. B lenfositlerdeki, Ig sentezleyen genlerin **BF**'ta düzenlendiği ortaya konulmuştur (17, 23, 82, 83, 106). Bu süreç memelilerde fetal dönemde karaciğerde, doğumdan sonra ise kemik iliğinde gerçekleşmekte olup, tüm yaşam süresince devam eder. Sözü edilen bu temel farklılık nedeniyle kanatlılarda **BF**, B-lenfositlerin gelişim, olgunlaşma ve antikor sentezine ilgili çalışmalarda benzersiz bir kolaylık sağlamış, tüm omurgalılarda, antikor sentezine ilgili bilinmeyenlerin aydınlatılmasında model olmuştur (81, 82, 98, 99, 104,106). Ayrıca, tavuk embriyolarında **BF**'un granülositopoietik ve eritropoietik bir organ oluşunun yanı sıra bazı endokrin fonksiyonlar da üstlendiği kaydedilmiştir (17, 23, 85, 106).

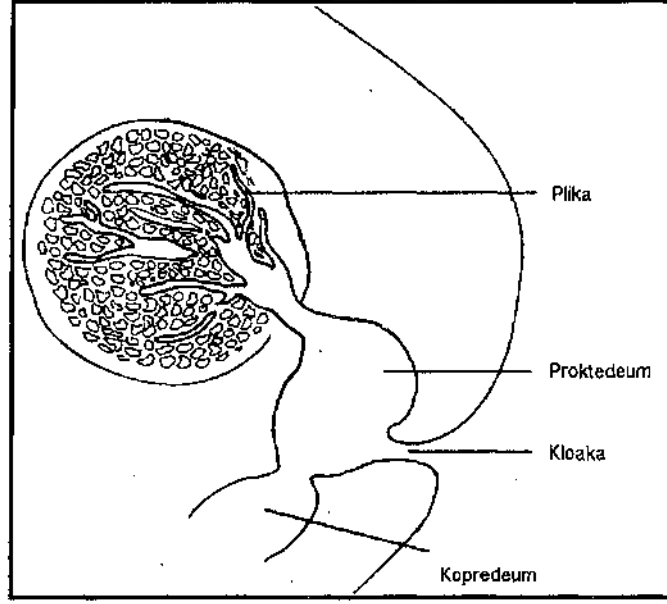
Bazı araştırmacılar, **BF**'un involusyona uğramasını yumurtanın döllenmesi için gerekli görmüşlerdir. İnvolusyonun şekillenmemesi halinde sperm hücrelerinin **BF** tarafından fagosite edileceği ve döllenmenin gerçekleşemeyeceği ileri sürülmüştür (104).

1.8.2. Bursa Fabricius'un morfolojik yapısı

BF, kloakanın proktedeal bölgesinin dorsal bir divertikulumu olup, 90'dan fazla kanatlı türünde tespit edilmiştir (2, 24, 82, 85). Sığırcık ve Pekin Ördeklerinde uzun, sosis şeklinde olup, diğer kanatlı türlerinde ovalimsi bir görünümdedir (24). **BF**'un ventral yüzeyi koprodeumun dorsal yüzüne oturur. Kanatlılarda embriyonal ve kuluçkadan sonraki dönemlerde **BF** ile çevresindeki dokuların anatomik ilişkileri Şekil-2A, B, C, D'de, ekvatorial kesitinin histolojik görünümü Şekil-2E 'de, kuluçkadan sonraki anatomik lokalizasyonu ise Şekil-2F 'de şematize edildiği üzeredir.



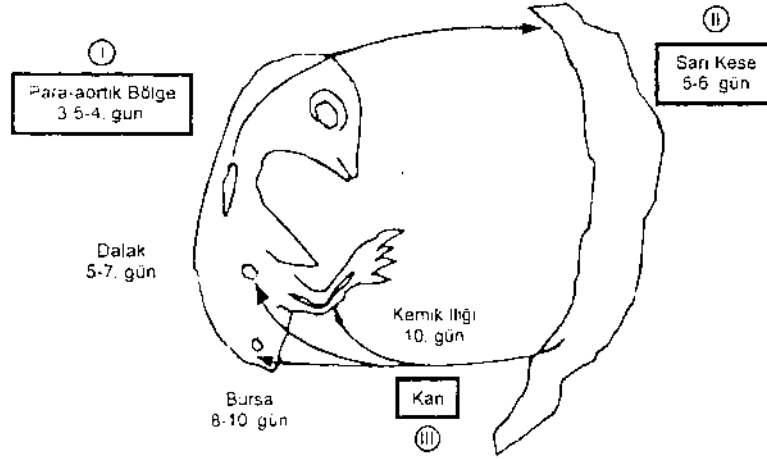
Şekil-2: 15 günlük ördek embriyosunda BF ile çevresindeki dokuların anatomik olarak lokalizasyonlarının şematik olarak gösterimi. A- BF'un ventrolateralinden görünümü, B,C- Erkek ve dişi embriyolarda BF ile çevre dokularının anatomik yerleşimleri, D- Media-sagittal kesitinde BF ve çevresindeki dokular, E- Vertikal kesitinde BF'un histolojik görünümü (41, 85).



Şekil-2,F: Kuluçkadan sonra BF'un kanatlarda anatomik lokalizasyonunun şematik görünümü (41).

BF'un lumeni şekillendikten sonra epiteli çevreleyen mezenşim hücreleri, epitel etrafında konsantrik yapılar oluşturur. Mezenşimal dokunun hipertrofisi ile ilk longitudinal plika şekillenmiş olur. Daha sonra tunika seroza, muskularis ve mukoza farklılaşmaya başlar. Onüçüncü kuluçka gününde tavuk embriyosunda tunika seroza, abdominal periton ve ventral mezorektumla iştiraklidir. Plikalar ve onların arasındaki bölgeler üç ya da dört sıralı homojen kalınlıktaki epitel hücresinden oluşur. Kalınlaşan epitelin oluşturduğu tomurcuklar tavuk embriyosunda onikinci, ördek embriyosunda ise onbeşinci inkübasyon gününde görülmeye başlanır. Başlangıçta folliküller konik şekilli ve geniş tabanlıdır. Büyüdükçe yuvarlak bir hal alır. Komşu mezenşimal hücreler, tomurcukların etrafında konsantrik olarak dizilirler. Hatta epitel tomurcuklar oluşmazdan evvel bile, mezenşimden farklılaşan iri amoboid hücreler tomurcukların görüleceği epitelin alt bölgelerinde birikir. Epitel tomurcuk oluşup geliştikçe, amoboid hücreler tomurcuk içerisine girerler. Epitel hücrelerinin çoğunda sitoplazmik vakuolizasyon ve nükleer dejenerasyon görülür. Sağlam kalan epitel hücrelerinden bir kısmı, tomurcuğun çevresinde tek sıra halinde dizilir. Diğer bir kısmı ise, retiküler yapıyı oluşturmak için retikulum hücrelerine dönüşür. Endodermal orjinli epitel hücrelerinden bir kısmı, spesifik fagositik karakterli folliküler epitele farklılaşarak bölgesel antijenlerin alınması ve taşınmasında rol oynar (60, 72, 97).

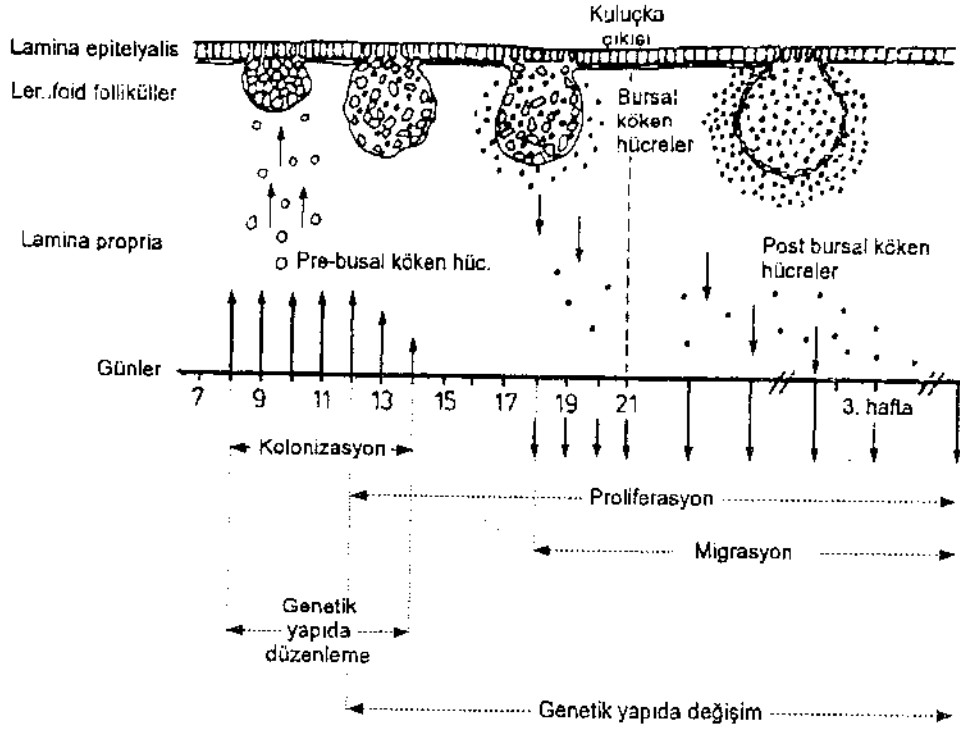
Bursal lenfositlerin kökenine ilgili olarak önceleri bunların **BF** epitelinden (2), hatta mezenşiminden (22) farklılaştığı ileri sürülmüş olmakla birlikte, son yıllarda yapılan çalışmalarda bunların hematopoietik hücreler olarak aortanın etrafındaki mezanşimal dokudan köken aldığı (3.5-4. kuluçka günlerinde), daha sonra sarıkeseye (5-6. kuluçka günlerinde) ve oradan da merkezi lenfoid organlara göçettiği ortaya konulmuştur (Şekil-3).



Şekil-3: Kanatlılara bir model olarak tavuk embriyosunda B lenfosit köken hücrelerinin lenfoid organlara göçünün şematik olarak gösterimi (17, 22, 82).

- (I) Hematopoietik köken hücreler kanatlı embriyosunda ilk olarak para-aortik bölgede gözlenir.
- (II) Daha sonra sarıkeseye göç eden bu hücreler.
- (III) Sekizinci günden sonra sarıkeseden genel kan dolaşımına karışarak lenfoid organlara göçlerini tamamlar.

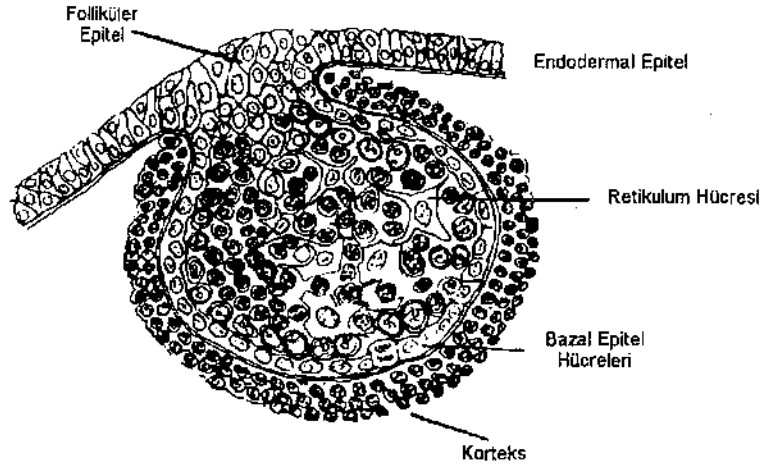
Buna göre, lenfoepitelyal bir organ olan **BF**, ekstrinstik ve instrinstik olmak üzere iki farklı yapıdan oluşmaktadır. B lenfosit köken hücreleri (prebursal hücreler), 8-9. günden itibaren bursa epiteline yerleşmeye (kolonizasyon) başlar. Ondördüncü kuluçka gününe kadar devam eden kolonizasyon ile birlikte **BF**'ta köken hücreler, henüz tam olarak bilinmeyen faktörlerin etkisiyle hem prolifer olurlar, hem de olgunlaşarak bursal köken hücrelerine dönüşürler. Kuluçkanın onyedinci gününden itibaren, bursal köken hücreleri, post-bursal köken hücreler olarak **BF**'u terk etmeye başlar (17, 22, 24, 80-82, 85, 104, 106). Kanatlılarda B lenfositlerin **BF**'taki embriyolojik dönemden başlayarak morfolojik gelişimi Şekil-4'de gösterilmiştir.



Şekil-4: Kanatlılarda B lenfositlerin BF'taki morfolojik gelişimi (81-83, 85, 106) .

Bursal rudiment ya da taslak, embriyonal yaşamın dördüncü gününde uredeal membranın kenarında ve kloaka epitelinden gelişerek belirgin hale gelir. Bursal rudiment içi oyuk, kapalı kese benzeri bir görünümde olup, kloakaya dorsal olarak yerleşir. Kesenin iç yüzü, merkezi bir lumen etrafında epitel kıvrımları oluşturarak genişler. Plikaları örten kolumnar epitel bölünerek, lamina propria içine uzanan epitel tomurcuklarını oluşturur (24, 80, 81, 85). Histolojik olarak; BF'un duvarı, periferden lumene doğru ince bir seroza, muskularis (longitudinal ve sirkuler) ve mukozadan oluşur. Mukoza, bursa duvarının en kalın bölümü olup, bir kaç sıralı silindirik ya da kübik epitel tabakası ile, tüm plikaların içerisine uzanarak follikül olarak isimlendirilen yapılara destek oluşturan bağ dokudan ibarettir. Folliküllerin herbiri içte medulla, dışta korteks olmak üzere iki farklı yapıdan oluşur. Hem kortekste ve hem de medullada lenfoid hücreler retikulum ipliklerinden oluşan ağimsi bir yapı içerisinde bulunur.

Gelişimini tamamlamış bir bursal follikülün histolojik yapısı ise Şekil-5'te görülmektedir.



Şekil-5: Gelişimini tamamlamış bir bursal follikülün histolojik yapısı (77).

Kloakaya karbon solusyonu uygulandığında follikülleri örten epitel (folliküler epitel) karbon partiküllerini fagosit ettiğinden, bu bölgeler siyaha boyanır. Söz konusu siyah bölge alanlar sayılarak dört haftalık piliçlerde 10-12 adet plika ve her plikada yaklaşık 8.000-12.000 adet follikül bulunduğu bildirilmiştir (72). **BF** ağırlığı ve lenfosit içeriği arasında doğru orantılı bir korelasyon bulunduğu da kaydedilmiştir (77). Bursal B lenfositlerinin farklılaşmasında, bağırsaktan bursa kanalı ile ulaşan antijenik uyarımların etkili olmadığı ileri sürülmüştür (10).

Bursa ağırlığı kanatlı tür ve ırklarına, yetiştirme şekline, cinsiyetine göre değişmekle birlikte, genellikle onuncu haftadan sonra azalır. 10-16. haftalarda bursal lenfositlerdeki mitoz sayısı azalır (22, 60). 17-18. haftalarda folliküler medullada görülen musin damlacıkları 23-24. haftalarda mukoid kistlere dönüştükten sonra bursal involüsyon süreci tamamlanarak **BF**, fibrotik bir kitle halini alır (60).

Kanatlılarda **BF** 'un involüsyonu, seksüel olgunluğun başlaması ile yakından ilişkilidir. Seks steroidlerinin enjeksiyonu ile **BF**'un gelişimi önlenmektedir. Bu durum androjenlerin varlığında lenfositler mitozun önlenmesi ile açıklanmaktadır (22, 24, 73).

2. MATERYAL VE METOT

Çalışmada 450 adedi Kars Tarım İl Müdürlüğü, Kaz Üretim ve Yetiştirme Çiftliği'nden, 90 tanesi de Afyon ilindeki özel sektöre ait bir çiftlikteki kümeslerden sağlanan toplam 540 adet kaz yumurtası kullanıldı. Yumurtaların alındığı bu damızlık sürülerde o zamana kadar bir infeksiyonun görülmediği ve herhangi bir aşılama yapılmadığı ilgililerce ifade edildi. Ayrıca 90 adet yumurtanın sağlandığı çiftlikteki iki kümeden 15'er adet anaçlardan alınan kan serumları, **IBD** yönünden Agar Gell Immunodiffusion (AGID) yöntemiyle muayene edildi (38).

Virus olarak da Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalında 1973 yılında tavuklarda görülen bir **IBD** olgusundan izole edilmiş olan **IBDV** izolatının yirmiyedinci tavuk embriyosu pasajı ($ELD_{50} 10^{-3}/0.2$ ml) kullanıldı. Canlı embriyolu yumurtalar onbirinci kuluçka gününde seçildi. Embriyolu yumurtalara; 0.2 ml miktarında viral süspansiyon sarıkeseye onikinci, KAM'a ondördüncü kuluçka günlerinde olmak üzere farklı kuluçka günlerinde ve farklı yollardan inoküle edildi (44).

Çalışma aynı koşullarda dört kez tekrarlandı. Kuluçka makinasında % 80 nem ve 37.5 °C'de tutulan embriyolarda inokülasyon sonrası ilk kırksekiz saat içinde görülen ölümler spesifik olmayan etkilere bağlanarak tüm değerlendirmelerin dışında tutuldu. Kullanılan embriyolu kaz yumurtalarının sayısı, embriyolu yumurta sayısı, inokülasyon yapılan embriyo sayısı, kontrol embriyo sayısı ile ilk kırksekiz saat içerisinde ölerken değerlendirme dışında tutulan embriyo sayılarının günlere göre dağılımı ve kuluçkadan çıkan palazların sayısı, Tablo -4'te gösterilmiştir.

Tablo-4: Çalışmada kullanılan yumurta sayısı ve embriyolu yumurta sayısı ile inokülasyon yapılan, değerlendirme dışı bırakılan embriyolar ile kuluçkadan çıkan palaz sayılarını gösterir.

Denemeler	Kuluçkaya Bırak Yumurta Sayısı	Embriyolu Yumurta Sayısı	İnok. Yapılan Emb. Sayısı		Kont. Grubu Emb. Sayısı	Değerlendirme Dışı Bırakılan Emb. Sayısı		Kuluçkadan Çıkan Palaz Sayısı	
			Sarıkeseye	All. Boşl.		Sarıkeseye	All. Boşl.	All. Boşl.	Kontrol
I. Deneme	150	105	25	45	35	3	2	10	10
II. Deneme	200	103	40	40	23	1	2	-	-
III. Deneme	100	56	20	20	16	4	2	-	-
IV. Deneme	90*	35	10	10	15	1	1	-	-
Toplam	540	299	95	115	89	9	7	10	10

* 10 adet kaz yumurtasında, yumurta sarısının protein analizi yapıldı.

Dört ayrı denemede toplam 105 embriyolu yumurtanın sarıkesesine (yedi grup olarak), 115 tanesinin de allantois boşluğuna (altı grup olarak) inokülasyon yapılırken, 89 adet embriyolu kaz yumurtası da kontrol olarak kullanıldı. Toplam dört denemede allantois boşluğuna (Grup Enfekte Allantois Boşluğu-Grup EAB) ve sarıkeseye (Grup Enfekte Sarıkese-Grup ESK) inokülasyon yapılmış olan embriyo gruplarından alınan embriyo sayıları ile ölü, canlı ve kontrol grubu embriyo sayıları Tablo-5 ve Tablo-6'da gösterilmiştir. Birinci denemede allantois boşluğuna inokülasyon yapılan (Grup EAB) 25 embriyo ile 15 adet kontrol grubu embriyo kuluçkanın sona erdiği 28. günden sonra da kuluçka makinasında bırakılarak kuluçkadan çıkmaları için beklenildi. Kuluçkadan çıkan enfekte ve kontrol grubu palazlar muhtemel bir buluşmayı önlemek amacıyla ayrı bölümlerde tutuldu. Yem (ticaret et tipi civciv yemi) ve su ad libitum olarak bulundu. Palazlarda gözlenen klinik bulgular not edildi. Dördüncü denemede kullanılan 90 yumurtanın 10 tanesinde ve eşit sayıda tavuk yumurtasında Kheldahl yöntemiyle % olarak protein içeriği tayin edildi.

Tablo-5: Sarıkese yoluyla virus inoküle edilen embriyolar (Grup Enfekte Sarıkese - Grup ESK) ile ölü, canlı ve kontrol grubu embriyo sayılarının gruplara (günlere) göre dağılımını gösterir tablo.

GRUPLAR (Günler)		1. DENEME			2. DENEME			3. DENEME			4. DENEME		
		Emb. Say.	Ölü	Canlı	Emb. Say.	Ölü	Canlı	Emb. Say.	Ölü	Canlı	Emb. Say.	Ölü	Canlı
I. GRUP (15-16. Gün)	ESK*	4	0	4	6	1	5	3	1	2	2	2	0
	Kontrol	3	0	3	3	0	3	3	0	3	3	0	3
II. GRUP (17-18. Gün)	ESK	4	4	0	7	4	3	4	2	2	1	1	0
	Kontrol	2	0	2	4	0	4	2	0	2	2	0	2
III. GRUP (19-20. Gün)	ESK	3	0	3	6	4	2	4	0	4	2	0	2
	Kontrol	2	0	2	4	0	4	3	0	3	2	0	2
IV. GRUP (21-22. Gün)	ESK	3	3	0	4	2	2	2	1	1	1	0	1
	Kontrol	3	0	3	5	0	5	2	0	2	2	0	2
V. GRUP (23-24. Gün)	ESK	3	0	3	6	1	5	1	1	0	1	0	1
	Kontrol	3	0	3	3	0	3	2	0	2	2	0	2
VI. GRUP (25-26. Gün)	ESK	3	0	3	6	0	6	1	1	0	2	0	2
	Kontrol	3	0	3	2	0	2	2	0	2	2	0	2
VII. GRUP (27-28. Gün)	ESK	2	0	2	4	0	4	1	0	1	0	0	0
	Kontrol	4	0	4	2	0	2	2	0	2	2	0	2
Değ. Dışı Bir. Embriyo. Say.	ESK	3	-	-	1	-	-	4	-	-	1	-	-
TOPLAM	ESK	25	7	15	40	12	27	20	6	10	10	3	6
	Kontrol	20	0	20	23	0	23	16	0	16	15	0	15

* Enfekte Sarıkese

Tablo-6: Allantois boşluğuna, virus inoküle edilen embriyolar (Grup Enfekte Allantois Boşluğu-Grup- EAB) ile ölü, canlı ve kontrol grubu embriyo sayılarının gruplara (günlere) göre dağılımını gösterir tablo.

GRUPLAR (Günler)		1. DENEME			2. DENEME			3. DENEME			4. DENEME		
		Emb. Say.	Ölü	Canlı	Emb. Say.	Ölü	Canlı	Emb. Say.	Ölü	Canlı	Emb. Say.	Ölü	Canlı
I. GRUP (17-18. Gün)	E A B ⁺	2	0	2	6	1	3	3	2	1	2	1	1
	Kontrol	2	0	2	4	0	4	2	0	2	2	0	2
II. GRUP (19-20. Gün)	E A B	3	1	2	6	1	5	4	1	3	2	0	2
	Kontrol	2	0	2	4	0	4	3	0	3	2	0	2
III. GRUP (21-22. Gün)	E A B	4	0	4	8	5	3	3	1	2	1	1	0
	Kontrol	3	0	3	5	0	5	2	0	2	2	0	2
IV. GRUP (23-24. Gün)	E A B	4	0	4	6	0	6	2	0	2	1	0	1
	Kontrol	3	0	3	3	0	3	2	0	2	2	0	2
V. GRUP (25-26. Gün)	E A B	3	1	2	6	0	6	3	0	3	1	0	1
	Kontrol	3	0	3	2	0	2	2	0	2	2	0	2
VI. GRUP (27-28. Gün)	E A B	2	0	2	6	1	5	3	0	3	2	0	2
	Kontrol	4	0	4	2	0	2	2	0	2	2	0	2
Değer. Dışı Bırak. Em. Say.	E A B	2	-	-	2	-	-	2	-	-	1	-	-
TOPLAM	E A B	20	3	15	40	9	29	22	4	15	10	2	7
	Kontrol	17	0	17	20	0	23	13	0	13	12	0	12

⁺ Enfekte Allantois Boşluğu

İnokülasyon sonrası ilk kırksekiz saati takiben, hergün yaklaşık aynı saatlerde ve üç kez embriyoların karanlık odada yapılan canlılık muayenesinde ölü embriyolar saptandı. Alınan embriyolarda canlı ağırlık, **BF** ağırlığı, but uzunluğu (gövde uzunluğu) ve but genişliği (kalça genişliği) tespit edildi. But genişliği ve uzunluğu, embriyoların göğüs bölgesinden iğne ile tespitinden sonra kompas yardımıyla, embriyo ve **BF** ağırlığı ise, otomatik hassas terazi (Mettler tipi) ile ölçüldü. Ortalama değerleri ($\bar{X}$) ve standart sapmaları (S) hesaplandıktan sonra elde edilen verilerin karşılaştırılmasında *t*-testi kullanıldı (96). Sistemik nekropsi uygulanan embriyolardan usulüne uygun olarak **BF**, timus, Harder bezi, karaciğer, dalak, böbrek (metanefrozlar ve mezonefrozlar ayrı ayrı), boyun (m. longus colli, m. sternohyoideus), göğüs (m. latissimus dorsi, m. rhombodeus, m. teres major), but (m. sartorius, m. tensor fascia lata, m. biceps femoris, m. semi-membraneus, m. semitendinosus) ve bacak (m. flexor perforans, m. gastrekine-mius) bölgesi iskelet kasları, kursak, muskuler mide, beyin, beyincik, pankreas, ince ve kalın bağırsaklardan alınan doku örnekleri % 10'luk tamponlu nötral formalin solüsyonunda tespit edildi. Bilinen işlemlerden geçirildikten sonra hazırlanan parafin bloklar, 5 µm'ye ayarlı mikrotomda kesildi. Kesitler hematoxylin - eosin (H&E), gerekli hallerde ise van Gieson (vG), retikulum boyası (Gridley yöntemine göre), methyl green-pyronin ve ayrıca dondurma kesitleri de Oil Red O (ORO) boyama yöntemleri ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi (46).

3. BULGULAR

Dördüncü denemede kullanılan yumurtaların sağlandığı çiftlikteki damızlık kazlardan alınan toplam otuz adet kan serumunun serolojik muayenesinde IBD'ye özgü presipite edici antikor saptanamamıştır.

Makroskobik ve mikroskobik bulgular ile ölçüm ve tartımlar dört ayrı denemenin sonuçlarına göre değerlendirilmiştir. Bu tartım ve ölçümlere ait ortalama değerler ($\bar{X}$) ile standart sapmalar (S) Tablo-7 ve Tablo-8'de, embriyo ağırlığı ile but uzunluğu ve kuluçka süresi arasındaki ilişkiler Grafik-1 ve Grafik-2'de, but genişliği ve BF ile kuluçka süresi arasındaki ilişkiler de Grafik-3 ve Grafik-4'te gösterilmiştir. Grafik ve tablolarda enfekte ile kontrol grubu değerleri birlikte sunulmuştur. Enfekte ve kontrol gruplarında ölü embriyo sayılarının günlere göre dağılımı ise, Grafik-4 ve Grafik-5'te özetlenmiştir.

Tablo-7: Sarıkese yoluyla enfekte edilen embriyolar ile kontrol grubu embriyoların farklı günlerdeki ağırlıkları, but uzunluk ve genişlikleri ile BF ağırlıklarının ortalama değerleri ve standart sapmaları ile gruplar arasındaki önem kontrolleri.

GRUPLAR (GÜNLER)		n	EMB AĞIRLIĞI (gr)		BUT UZUN. (cm)		BUT GEN. (cm)		BF AĞIR. (mg)	
I. GRUP (15-16. Günler)	ESK	15	9.46	2.392	4.55	0.356	1.66	0.357	14.31	1.834
	Kontrol	13	8.40	1.980	4.50	0.374	1.00	0.165	10.46	3.556
	t		1.266		0.384		6.110***		3.667	
II. GRUP (17-18. Günler)	ESK	16	16.64	1.629	6.45	1.296	2.24	0.473	37.05	6.580
	Kontrol	10	16.18	2.367	6.77	1.200	1.60	0.316	24.99	5.417
	t		0.585		0.636		3.793***		4.849	
III. GRUP (19-20. Günler)	ESK	15	36.82	7.231	8.70	1.041	2.93	0.625	46.87	5.476
	Kontrol	11	28.06	2.955	9.06	0.169	1.75	0.453	42.32	2.843
	t		3.778***		1.141		5.343***		2.553*	
IV. GRUP (21-22. Günler)	ESK	10	41.33	5.857	10.47	1.510	2.57	0.724	45.82	6.241
	Kontrol	12	44.27	5.776	10.88	1.276	2.56	0.312	54.79	4.925
	t		1.183		0.696		0.049		3.771**	
V. GRUP (23-24. Günler)	ESK	11	39.46	3.602	11.64	1.626	2.97	0.415	41.36	4.832
	Kontrol	10	39.88	2.332	12.76	0.552	3.25	0.303	62.71	4.513
	t		0.314		2.072*		1.734		10.436***	
VI. GRUP (25-26. Günler)	ESK	12	45.40	6.154	13.45	1.190	3.63	0.488	48.48	6.345
	Kontrol	10	48.44	4.709	13.50	1.018	3.64	0.201	71.21	3.850
	t		1.323		0.108		0.072		10.246***	
VII. GRUP (27-28. Günler)	ESK	7	59.33	6.203	14.19	1.079	3.91	0.334	55.50	5.515
	Kontrol	10	56.97	4.837	14.71	0.799	4.13	0.437	78.41	6.451
	t		0.883		1.154		1.097		7.629***	

* : P<0.05

** : P<0.01

*** : P<0.001

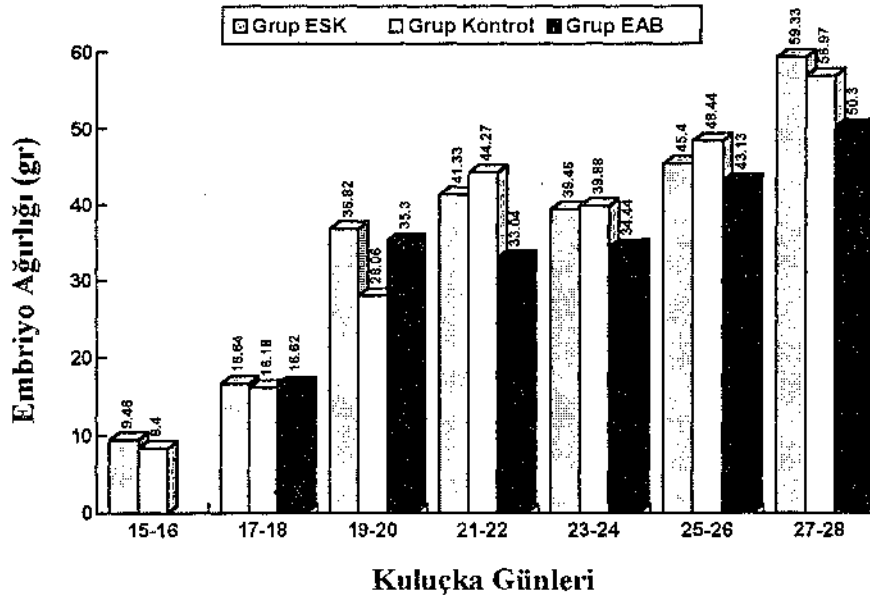
Tablo-8: Allantois boşluğu yoluyla enfekte edilen embriyolar ile kontrol grubu embriyoların farklı günlerdeki ağırlıkları, but uzunluk ve genişlikleri ile BF ağırlıklarının ortalama değerleri ve standart sapmaları ile gruplar arasındaki önem kontrolleri.

GRUPLAR (GÜNLER)		n	EMBAĞIRLIĞI (gr)		BUT UZUN. (cm)		BUT GEN. (cm)		BF AĞIR. (mg)	
			$\bar{X}$	S	$\bar{X}$	S	$\bar{X}$	S	$\bar{X}$	S
I. GRUP (17-18. Günler)	EAB	13	16.62	2.191	4.91	0.771	1.83	0.375	35.58	7.696
	Kontrol	10	16.18	2.367	6.70	1.200	1.60	0.316	24.99	5.17
	t		0.455		0.526***		1.565		3.694**	
II. GRUP (19-20. Günler)	EAB	15	35.30	7.304	5.67	1.465	1.91	0.370	50.29	7.881
	Kontrol	11	28.06	2.955	9.06	0.169	1.75	0.453	42.32	2.843
	t		3.096**		7.631***		1.019		3.221	
III. GRUP (21-22. Günler)	EAB	16	33.04	7.409	7.51	1.679	3.04	0.767	41.39	7.651
	Kontrol	12	44.27	5.776	10.88	1.276	2.56	0.312	54.79	4.925
	t		4.348***		5.801***		2.063*		5.289***	
IV. GRUP (23-24. Günler)	EAB	13	34.44	4.754	9.99	1.835	2.21	0.634	42.30	8.867
	Kontrol	10	39.88	2.332	12.76	0.552	3.25	0.303	62.71	4.513
	t		3.343**		4.612***		4.822***		6.692***	
V. GRUP (25-26. Günler)	EAB	13	43.13	9.814	9.95	1.050	3.89	0.842	46.16	10.419
	Kontrol	10	48.44	4.709	13.50	1.018	3.64	0.205	71.21	3.850
	t		1.645		8.504***		0.985		7.551***	
VI. GRUP (27-28. Günler)	EAB	13	50.30	8.357	13.27	2.316	4.01	0.774	53.06	9.325
	Kontrol	10	56.97	4.837	14.71	0.779	4.13	0.437	74.81	6.451
	t		2.271*		1.886		0.431		7.464***	

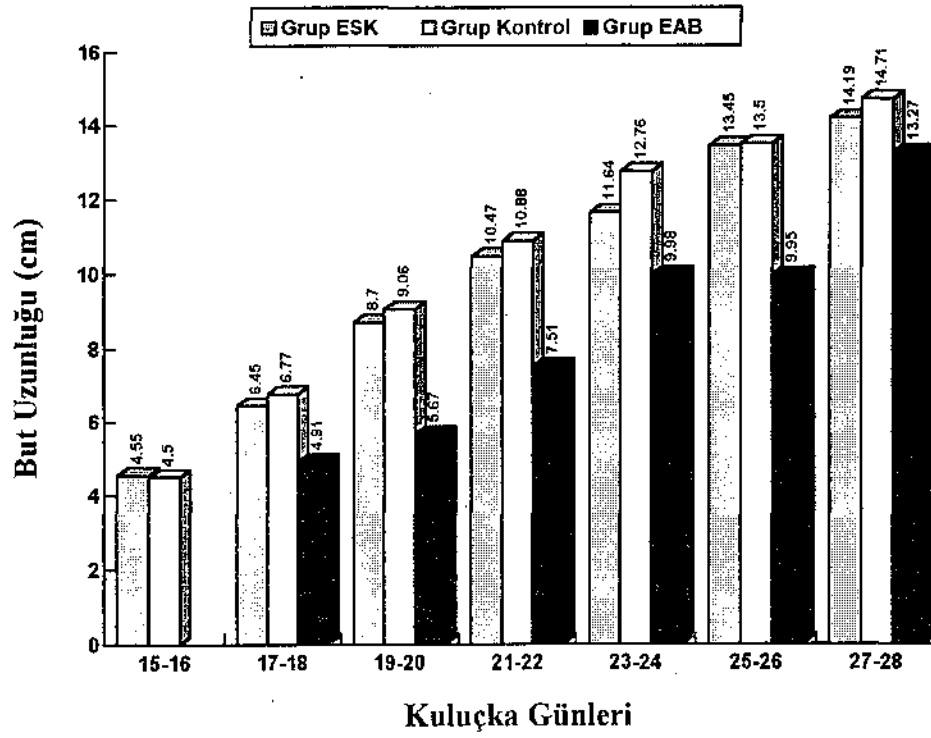
* : P<0.05

** : P<0.01

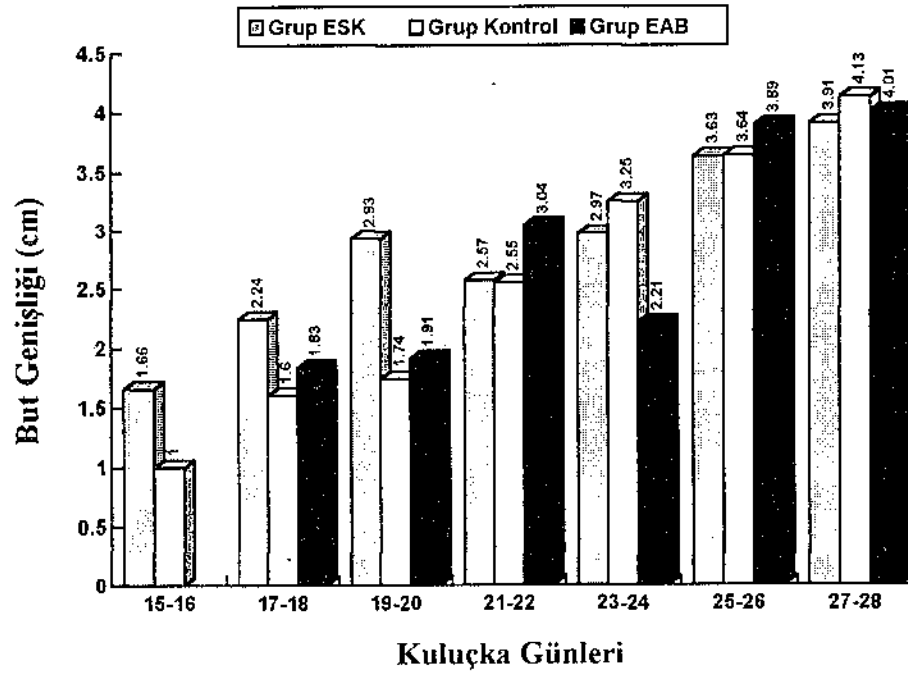
*** : P<0.001



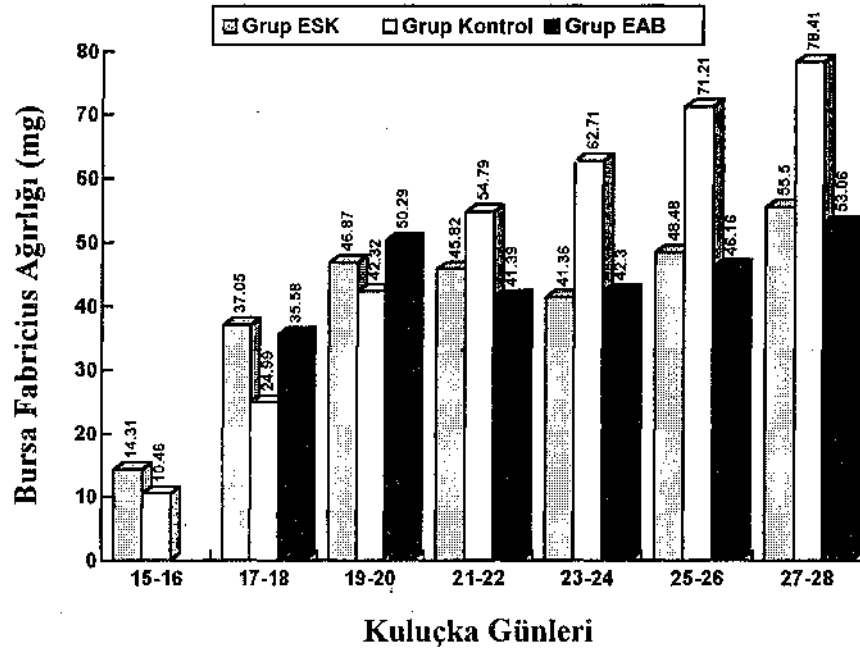
Grafik-1: Enfekte (Grup ESK ve Grup EAB) ve kontrol gruplarında embriyo ağırlığının kuluçka günlerine göre dağılımı.



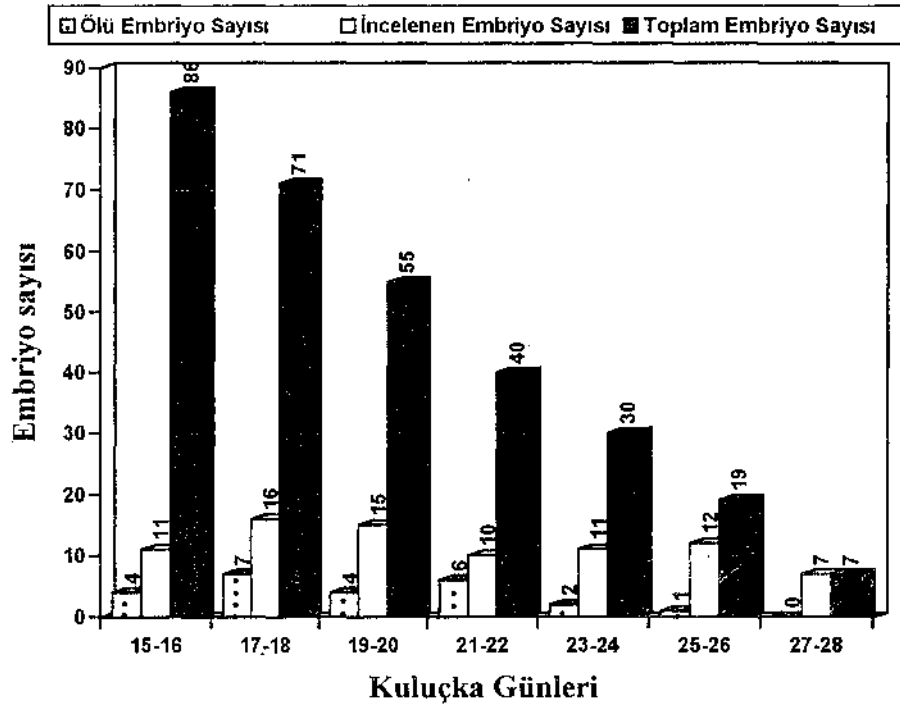
Grafik2: Enfekte kontrol ESK ve Grup EAB gruplarında embriyo but uzunluğunun kuluçka günlerine göre dağılımı.



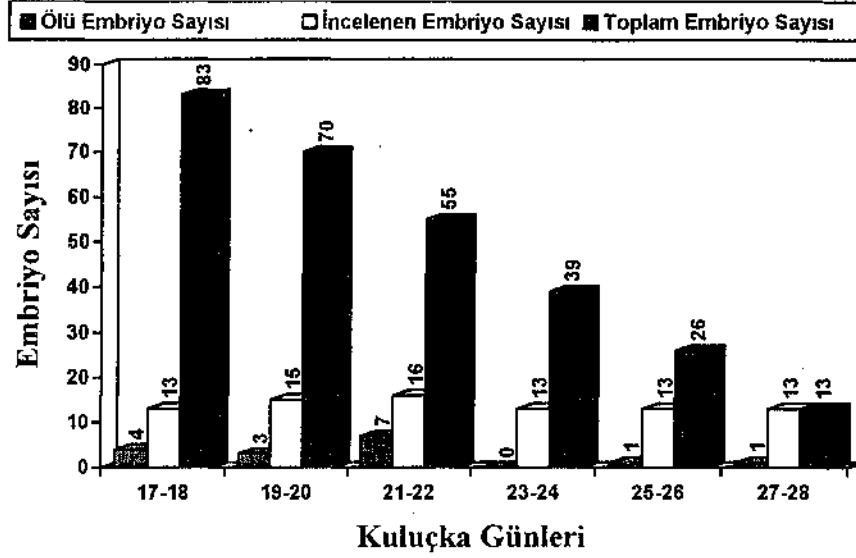
Grafik-3: Embriyo but genişliğinin enfekte (Grup ESK ve Grup EAB) ve kontrol gruplarında kuluçka günlerine göre dağılımı.



Grafik-4: Embriyo bursa Fabricius ağırlığının enfekte (Grup ESK ve Grup EAB) ve kontrol gruplarında kuluçka günlerine göre dağılımı.



Grafik-5: Grup ESK'de toplam embriyo sayısı ile ölü ve canlı embriyo sayılarının kuluçka günlerine göre dağılımı.



Grafik-6: Grup EAB'da toplam embriyo sayısı ile ölü ve canlı embriyo sayılarının kuluçka günlerine göre dağılımını gösterir grafik.

3.1. Makroskobik Bulgular

3.1.a. Sarıkese yoluyla virus inokule edilen embriyo gruplarında gözlenen makroskobik bulgular

I. Grup [ESK(15-16. günler)]: İnokülasyon sonrası üçüncü günde ölü ve canlı embriyolarda ilk olarak, **BF** ve çevresindeki dokulardaki hafif şiddette bir ödem gözlemlendi. Benzer şekilde enfekte embriyolarda **BF** ağırlığı ve but genişlikleri kontrollerden daha fazla idi. Aradaki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($P < 0.001$). **BF** ile çevresindeki dokular şişkin olup, bu görünüşleri ile dış bakıda belirginlik kazanmışlardı. Sözü edilen ödemin kloaka, karnın ventrali ve hatta boyun bölgesine kadar yayılmış olduğu saptandı (Resim-1). Embriyoların bazılarında, bu lezyonlara ilaveten sakrumun dorsal bölgelerinde de hafif bir ödem ile serpiştirilmiş odaklar halinde tek tük peteşiyal kanamalar mevcuttu. Enfekte ve kontrol embriyolarında vücut ağırlıkları enfekte embriyolarda kontrollere göre daha fazla bulunmuş olmakla birlikte, bu farklılık matematiksel düzeyde idi. İncelenen embriyoların tümünde rastlanmamakla birlikte, karaciğer şişkin ve kapsula altındaki damarları dolgun olup, hem paryetal ve hem de visseral yüzünde kapsulada sınırlı grimsi-beyaz çizgilenmeler ile karakterize mozaik (mermer) görünümünü anımsatan lezyonlar saptandı (Resim-2). Bunun dışında karın ve göğüs boşluğu organları ile beyinde herhangi bir makroskobik bulgu tespit edilemedi. Embriyonal mortalite oranı % 4.65 (4/86) idi.

II. Grup [ESK(17-18. günler)]: Birinci grup embriyolardaki lokal ödem ve hemorajilerin baş, boyun, sırt bölgesine, çene altına, sakral bölgeye ve parmaklara doğru yayıldığı dikkati çekti. Genel olarak embriyolarda ödemin şiddeti azaldıkça, kanamalar artma eğilimindeydi. Bazı embriyolarda özellikle but bölgesi derialtında berrak bir sıvının toplanması nedeniyle şiddetli ödemin görüldüğü, bazılarında ise yaygın hemorajilerin şekillendiği dikkati çekti (Resim-3, 4). Kanamalar da baş, boyun bölgesinde, parmak uçlarında, derialtında yerleşim göstermekte idi. But, bacak, kanat ve göğüs kaslarında da yersel hemorajik bölgeler mevcuttu. Yaygın kanamalar ölmüş olan embriyolarda daha şiddetli olmakla birlikte, canlı embriyolarda da ödem ve hemorajiler dikkat çekici idi. Bu grupta da embriyo ağırlığı ve but genişliği enfekte embriyolarda kontrollerin üzerinde seyretmesinin yanısıra bunlardan but genişliği kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı bulundu ($P < 0.001$). BF'un serozasında diffuz ödem ve kanamalar gözlemlendi (Resim-5). Kontroller ile enfekte embriyolar arasındaki tartım sonuçları, enfekte embriyolarda BF ağırlıklarının kontrollere göre istatistiksel olarak önemli derecede daha fazla olduğunu gösterdi ($P < 0.001$). Karaciğerin kapsulasında sınırlı, beyaz-gri çizgilenmeler ile yer, yer peteşiyal kanamalar bu gruptaki embriyoların hemen tümünde dikkat çekici idi. Bağırsakların serozası ile peritonda ve metanefrozlar da benzer şekilde yaygın peteşiyal kanamaların varlığı söz konusu idi. Diğer doku ve organlarda herhangi makroskobik bulguya rastlanmadı. Mortalite oranında birinci gruba göre artış (% 9.86 - 7/71) kaydedildi.

III. Grup [ESK(19-20. günler)]: Embriyolarda kas, derialtı ve derideki ödemlerin önceki gruba göre kısmen azaldığı, buna karşılık bu bölgelerdeki kanamaların giderek arttığı tespit edildi. Sözü edilen kanamalar ancak tüyler uzaklaştırıldıktan sonra ortaya konulabildi (Resim-6). İlk iki gruba benzer şekilde enfekte embriyo ağırlıklarının ortalama değerleri kontrollerin üzerinde bulundu. Ayrıca bu farklılık istatistiksel olarak da önemli idi ($P < 0.001$). BF'taki kanamaların bu grupta da artarak ve yaygınlaşarak devam ettiği gözlemlendi. BF ağırlığı ve but genişliği ortalama değerleri enfekte embriyolarda kontrollerin üzerinde bulundu ($P < 0.001$ ve $P < 0.05$). Karaciğer şişkin ve kenarları kütleleşmiş bir görünümde idi. Bu haliyle karaciğer kapsulası altında ve yüzlek olarak yerleşmiş çizgi şeklindeki değişimler (mozaik benzeri görünüm) ile birlikte diffuz hemorajiler mevcut idi. Metanefrozlarda ve bağırsak serozalarında önceki gruplarda tespit edilen kanamalar bu grupta da dikkat çekiciydi. Mortalite % 7.27 (4/55) oranında idi.

IV. Grup [ESK(21-22. günler)]: En fazla mortalitenin (% 15) gerçekleştiği bu grup embriyolarda but, bacak ve boyun bölgesindeki deride, derialtında ve vücut kaslarında kanamaların giderek azaldığı, embriyolarda vücutun total olarak ödemli olduğu gözlemlendi. Enfekte embriyoların BF'lerinin kontrollerine göre daha küçük ve hafif sarımsı bir görünümde oldukları tespit edildi (Resim-7). BF ağırlık ortalama değerleri kontrollerin altında ve istatistiksel olarak önemli ($P < 0.001$) bulundu. Önceki gruplara göre böbreklerde ve bağırsak serozasında kanamaların artarak devam ettiği dikkati çekti.

V. Grup [ESK(23-24. günler)]: Genel olarak önceki gruplarda gözlenen lezyonların şiddeti önemli derecede azalmış olup, embriyolarda çene altı ve boynun ilk üçte birine kadar olan bölümlerinde subkutan ödemler dikkati çekti. BF'lar kontrollerine göre daha küçük görünümde olup, tartım sonuçları da enfekte ve kontroller arasında istatistiksel olarak önemli bulundu ($P < 0.001$). Makroskobik olarak kontrol ve enfekte embriyoları, but uzunlukları arasındaki fark bu grupta da dikkat çekici idi. Bunun bir ifadesi olarak but uzunluğu değerleri kontrollerle karşılaştırıldığında önemli ölçüde ($P < 0.05$) küçük olarak bulundu.

VI. ve VII. Gruplar [ESK(25-26-27-28. günler)]: Bu gruplarda da BF'ların kontrollerine göre atrofik görünümü ve sert kıvamı, serozalarının pürüzlü yüzeyli olduğu ve bu haliyle bursaların adete içlerinin boşaldığı tespit edildi (Resim-8). Altı ve yedinci gruplarda da BF ağırlıkları kontrol ortalama değerlerinin istatistiksel olarak önemli derecede altında bulundu ($P < 0.001$).

Altı ve yedinci gruplar hariç, diğer tüm enfekte grupların korioallantoik membranlarında farklı şiddet derecelerinde ödem ve hemorajiler görüldü.

Sarıkeseye yoluyla enfekte edilen embriyo gruplarında (Grup ESK) gözlenen makroskobik lezyonların şiddetinin gruplara göre dağılımı Tablo-9'da özetlenmiştir.

Tablo-9: Sarıkeseye yoluyla inokülasyon yapılan embriyolarda makroskobik lezyonların gruplara göre şiddetini gösterir tablo.

MAKROSKOBİK LEZYONLAR	G R U P L A R (G Ü N L E R)						
	I. Grup (15-16)	II. Grup (17-18)	III. Grup (19-20)	IV. Grup (21-22)	V. Grup (23-24)	VI. Grup (25-26)	VII. Grup (27-28)
Tüm vücut kaslarında yaygın kanama	-	-	++	+++	-	-	-
Tüm vücutta yaygın ödem	-	+	+++	+++	-	-	-
Kaslarda lokal kanamalar	-	-	-	-	-	+	-
K. ciğerde mermer/mozaiik manzarası	+	+++	++	-	-	+	-
Metanefrozlarda hemorajik odaklar	-	+	+++	-	+	-	-
Bağırsak serozalarında kanama	-	+	+++	+++	+	-	-
B. Fabricius'da yaygın kanama	-	+	++	+	+	-	-
B. Fabricius'da yaygın ödem	+	++	++	+++	+	-	-
K. A. M.'da ödem ve kanama	+	++	+++	+	+	-	-

(-) Makroskobik lezyon görülmedi.
(++) Orta şiddette makroskobik lezyon

(+) Hafif şiddette makroskobik lezyon
(+++) Şiddetli makroskobik lezyon

3.1.b. Allantois boşluğuna virus inokule edilen embriyo gruplarında gözlenen makroskopik bulgular

Allantois boşluğuna virus inokule edilen embriyo gruplarında gözlenen makroskopik değişimler esas olarak sarıkeseye virus inokule edilen gruplara benzerlik göstermekle birlikte, çoğu makroskopik bulguların şiddet ve dağılımı daha hafif derecede idi.

I. Grup [EAB(17-18. günler)]: Bu grup embriyolarda, karın altında ve KAM'da ödem ile yer yer hemorajilerin varlığı dikkati çekti. **BF**'lar kontrollere göre daha şişkin bir görünümde olup, yapılan tartımlarda da **BF** ağırlıkları kontrollerden önemli derecede farklı bulundu ($P < 0.001$). Karaciğerin kapsulasında sınırlı, mozaik tarzında, belli belirsiz gri-beyaz çizgilenmeler gözlemlendi. Bunun dışında önemli makroskopik bir lezyona rastlanmadı.

II. Grup [EAB(19-20. günler)]: Birinci grup embriyolarda gözlenen bölgesel ödemlerin but, göğüs, boyun, çene altı ve gözlerin çevresindeki kaslara ve derialtına doğru yayıldığı gözlemlendi. Kaslarda ve özellikle de but kaslarında bölgesel peteşiyal kanamalar dikkati çekti. Embriyo ağırlıkları enfektelerde kontrol ağırlığının önemli derecede üzerinde bulundu ($P < 0.01$). **BF**'lar kontrollerin aksine, parlak beyaz renkli olmayıp, kenarları kütleşmiş, yumuşak kıvamda ve hafif hemorajik bir görünümdeydi (Resim-5). Enfekte embriyo **BF**'ları kontrollerin üzerinde saptanmış olmakla birlikte, aradaki farklılık matematiksel düzeyde önem taşımaktaydı. Karaciğer lezyonları bu grup embriyolarda da dikkat çekici idi. Bunun dışında karın ve göğüs boşluğu organlarında herhangi bir makroskopik bulgu saptanamadı.

III. Grup [EAB(21-22. günler)]: Vücut kaslarında (but, bacak ve boyun) kanama ve ödemler en yaygın olarak, bu gruptaki embriyolarda gözlemlendi. Hemorajiler, but, karın altı ve parmak uçları derisine doğru yaygınlaşmıştı. Bağırsak serozası ve böbreklerde de hafif ya da orta şiddetli yer yer hemorajik odaklar tespit edildi. Kontrol embriyo **BF** ağırlıklarının önceki gruplardakinin aksine enfekte embriyo **BF**'larının üzerinde bulundu. Aradaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($P < 0.001$). Embriyo ağırlıkları da enfektelerde bu gruptan itibaren kontrol embriyo ağırlıklarının altında seyretmeye başladı.

IV. Grup- [EAB(24-25. günler)]: Üçüncü grup embriyolarda gözlenen kaslardaki hemorajilerin şiddeti giderek azalmakla birlikte, baş ve boyun bölgelerindeki yersel ödemlerin varlığı dikkat çekici idi. BF'taki kanamalar, sarikeseye inokülasyon yapılan embriyolara göre çok daha hafif şiddetteydi. Ancak bununla birlikte, bu grup embriyoların BF'larında da önemli derecede bir ödem mevcuttu. Ödemli bir görünümde olmasına rağmen, enfekte embriyo BF ağırlıkları kontrol değerlerinden istatistiksel olarak önemli derecede daha düşük idi ($P < 0.001$).

V ve VI. Gruplar-[EAB(25-26-27-28. günler)]: Enfekte gruplarında, kontrollere göre BF'larının önemli derecede küçük bir görünümde (Resim-8) ve sert bir kıvamda olduğu dikkati çekti. Tartım sonuçlarına göre de enfekte ve kontrol grubu embriyoların BF'ları arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli idi. Enfekte embriyolarda şekillenen cücelik de dikkat çekici derecede (Resim-9).

Ayrıca sarikeseye inokülasyon yapılan gruplara benzer şekilde tüm allantois boşluğuna inokülasyon yapılan embriyoların birinci gruptan başlayıp, beşinci gruba kadar devam eden KAM'larında farklı derecelerde ödem ve hemorajiler saptandı.

Allantoik boşluğa virus inoküle edilerek enfekte edilen embriyolarda gözlenen makroskobik lezyonların şiddetinin gruplara göre dağılımı Tablo-10'da özetlenmiştir.

Tablo-10: Allantois boşluğuna inokülasyon yapılan embriyolarda makroskobik lezyonların gruplara göre şiddetini gösterir tablo.

MAKROSKOBİK LEZYONLAR	GRUPLAR (GÜNLER)					
	I. Grup (17-18)	II. Grup (19-20)	III. Grup (21-22)	IV. Grup (23-24)	V. Grup (25-26)	VI. Grup (27-28)
Tüm vücut kaslarında yaygın kanama	-	-	++	+	-	-
Tüm vücutta yaygın ödem	-	+	++	+	-	-
Kaslarda lokal kanamalar	-	+	+++	+	+	+
K. ciğerde memmer/mozaiik manzarası	+	+	+	-	-	-
Metanefrozlarda hemorajik odaklar	-	+	++	+	-	-
Bağırsak serozalarında kanama	-	-	++	+	-	-
B. Fabricius'da yaygın kanama	-	-	++	+	-	-
B. Fabricius'da yaygın ödem	+	+	++	-	-	-
K. A. M.'da ödem ve kanamalar	+	-	++	+	+	-

(-) Makroskobik lezyon görülmedi.
(++) Orta şiddette makroskobik lezyon

(+) Hafif şiddette makroskobik lezyon
(+++) Şiddetli makroskobik lezyon

3.1.c.Enfekte palazlarda gözlenen makroskopik bulgular

Birinci denemede allantois boşluğuna inokülasyon yapılan kaz embriyolarından 25 tanesi kuluçka süresinin 28. gününden sonra yumurtadan çıkmak üzere bekletildi. Otuzuncu kuluçka gününde 10 adet enfekte ve 13 adet kontrol grubu embriyo yumurtadan çıktı.

Enfekte kaz palazlarında birinci günden başlayarak iştahsızlık, durgunluk, gelişme ve tüylenme bozuklukları gözlemlendi Dokuzuncu günden sonra yeşil renkli ishal, yüzü koyun yere yatma gibi klinik belirtiler (Resim-10). ve ani ölümler şekillenmeye başladı. Hastalığın onbeşinci günde seyrinin tamamladığı ve enfekte palazlarının tamamının öldüğü görüldü. Nekropsi'de enfekte palazların kontrollerine göre gelişme gerilikleri gösterdikleri, kasların kontrollerine göre koyu renkte oluşunun yanısıra karaciğerlerin solgun ve sarımsı renkte olduğu dikkati çekti (Resim-11). Enfekte palazların BF'lerinin kontrollerine göre daha küçük (Resim-12) ve sert bir kıvamda kıvamlı oldukları tespit edildi. Böbreklerde de yer yer peteşiyal kanamalar gözlemlendi.

Yumurta sarısı protein oranları Kheldahl yöntemi ile kaz yumurtalarında % 17.85, tavuk yumurtalarında ise % 17.839 oranında olduğu, t- 0.0475 düzeyinde bulunan farklılığın ise istatistiksel olarak önemli olmadığı saptandı.

3.2. Mikroskopik Bulgular

3.2.a. Sarıkese yoluyla enfekte edilen embriyo gruplarında gözlenen mikroskopik bulgular

Birinci grup embriyo BF'lerinde mezenşimal dokuda hafif şiddette bir ödemle birlikte plika epitelinin yassılaşması ve yer yer deskuamasyonu ile karakterize lezyonlar gözlemlendi (Resim-13). Ödemin bir sonucu olarak bağdoku ipliklerinin birbirinden ayrıldığı, hafif pembe renkli ödem sıvısında tek tük eritrositlerin varlığı dikkati çekti. Lamina propriadaki mezenşim hücrelerinin kontrollerine göre daha az yoğunlukta olduğu saptandı. Kontrol gruplarında ise plikaları örten epitel hücreleri homojen kalınlıkta olmayıp, yer yer üç veya dört sıralı epitel hücrelerinden oluşmuş kalınlaşmalar içermekteydi.

İkinci grup embriyolarda lamina proprianın alt kesimlerindeki kapillar damarlarda hiperemi ve çevresindeki dokularda hemorajiler mevcut idi. Plikaları örten epitel hücrelerinde yer yer deskuamasyon ve BF'un lumeninde nekrotik doku artıkları gözlenmiş olmakla birlikte, sağlam görünümlü epitel hücrelerinin kendi aralarında oluşturdukları epitel tomurcukları şekillenmeye başladı. Kontrol grubu embriyolarında ise epitel tomurcularının plika epitelinden ayrılarak

lamina propria içerisindeki yerlerini almaya başladıkları dikkati çekti. Enfekte embriyolarda lamina proprianın alt kesimlerinde yuvarlak, bazofilik nükleuslu ve sitoplazmalarında ince eozinofilik boyanmış granüller ihtiva eden heterofil granülositlerden oluşan hücre kümelerine raslanıldı.

Üçüncü grupta lamina proprianın alt kesimlerindeki konjesyon ve hemorajilerin plikalara doğru yayıldığı (Resim-14) ve tunika muskularis de dahil olmak üzere BF'un total olarak ödemli bir görünümde olduğu dikkati çekti (Resim-15). Bu grubun sonlarına doğru hemorajilerin azaldığı, buna karşılık heterofil granülositlerin BF'un tüm kesimlerinde sayıca arttığı ve hatta lümeneye doğru infiltre oldukları dikkati çekti. Kontrol embriyolarında ise lamina propriada heterofil granülositler tek, tük olarak bulunmakta idi. Bursal lenfoid folliküllerdeki lenfositler seyrek olarak yerleşim göstermekte ve aralarında geniş boşluklar içermekteydi.

Dördüncü gruptaki embriyolarda, BF lümeninde nekrotik artıklar ile interfolliküler epitelde şekillenen villus benzeri kıvrımlar nedeniyle plikalar adete buruşmuş görünümdeydi (Resim-16). Artmış olan interfolliküler bağdokuda tek tük eritrositlerin varlığı ve heterofil granülosit infiltrasyonları bu grupta da dikkat çekici idi. Ayrıca bazı lenfoid folliküllerin içerisinde de heterofil granülositler bulunmakta idi (Resim-17).

Beşinci kontrol embriyolarında lenfoid folliküllerinde tam olarak stromayı doldurmalarına karşılık, enfekte embriyolarda interfolliküler bağdokusu artışı nedeniyle folliküllerin birbirlerine uzak olarak bulundukları dikkati çekti. Folliküler epitel de interfolliküler epitelde olduğu üzere hiperplazi ile plikaların buruşmuş görünimleri bu grupta da dikkati çekiciydi. Bazı BF'larda ise plika epitelinin düzensiz invaginasyonu ile oluşan kist benzeri yapıların varlığı söz konusuydu.

Altıncı ve yedinci enfekte gruplarda, beşinci grupta gözlenen lezyonların yanısıra plika epitelinin invaginasyonu ile ya da kortikomedullar epitelin glan-dular metaplazisi sonucu şekillenen bez benzeri yapıların varlığı saptandı (Resim-18).

Dalakta, birinci ve ikinci gruplarda trabekuler venlerle, kapillar damarlarda şiddetli hiperemi dikkati çekti. Birinci, ikinci, üçüncü ve dördüncü gruplarda sinuslarda ve subkapsüler dokuda diffuz hemorajiler gözlemlendi. Altıncı ve yedinci gruplarda beyaz pulpanın ortasındaki kapillar damar duvarını oluşturan perielipsoid hücrelerin oluşumu arasında herhangi bir fark gözlenmedi.

İskelet kaslarında gözlenen mikroskopik lezyonlar gruplara göre farklılık göstermekle birlikte, konjesyon, ödem, hemoraji, hyalin dejenerasyonu, nekroz mononükleer hücre infiltrasyonlarından ibaret idi.

İlk dört gruba dahil edilen embriyoların but, bacak, boyun ve sternum bölgesi kaslarında ikinci gruptan başlayıp şiddeti giderek artan konjesyon, ödem (Resim-19) ve hemorajiler gözlemlendi (Resim-20). Anılan lezyonların şiddeti but ve bacak kaslarında boyun ve sternum bölgesi kaslarına göre daha fazla idi. Lezyonların görüldüğü kasların üzerlerindeki derinin dermis ve subkutis tabakaları ile özellikle dermal kaslarda benzer şekilde ikinci gruptan başlayıp beşinci gruba kadar şiddeti artarak devam eden konjesyon, ödem ve hemorajiler gözlemlendi (Resim-21).

Dördüncü gruptan itibaren belli kas liflerinde ve düzenli bir dağılım göstermeyen, kasların şişkin ve aşırı eozinofilik görünümleriyle karakterize hyalin dejenerasyonları tespit edildi.

Beşinci gruptan başlayarak yedinci grubun sonuna kadar kaslarda miyofibrillerin kaybolması, nükleuslarda karyopiknoz ve karyoreksis ile karakterize nekroz ve mononükleer hücre infiltrasyonları ile birlikte ektopik lenfoid odaklar (Resim-22) kaydedildi.

Harder bezinin histopatolojik muayesinde 18-19. kuluçka gününe kadar epitel hücre kümelerinin biraraya gelerek oluşturdukları yapıların ortalarında lumenlerin şekillenmesiyle bezsel yapılar gözlenmeye başlandı. Dördüncü grup enfekte embriyolarda bezsel yapıların asinuslarında yaygın multifokal hemorajiler gözlemlendi. Kuluçkanın son günlerinde hem kontrol ve hem de enfekte gruplarda, bezlerin asinuslarında tek, tük lenfositlere benzeyen hücrelere rastlanmış olmakla birlikte, methyl-green-pyronin boyama yöntemiyle plazma hücrelerinin varlığı ortaya konulamadı.

Enfekte gruplardaki karaciğer lezyonları ilk üç grupta sınırlı idi. Birinci grupta sinuzoidlerin ve kan damarlarının yaygın bir şekilde eritrositler ile dolgun görünümü ile karakterize hiperemiler ve hemorajiler saptandı. Anterior, posterior ve intermedyal karaciğer loplarının tüm bölümlerinde genişlemiş sinuzoidler arasında trabekulaların adeta sıkıştığı ve hepatositlerde yer yer karyoreksisin şekillendiği, dikkati çekti. İkinci ve üçüncü gruplarda yaygın ve şiddetli hiperemi ile hemorajilerin yanısıra genellikle fokal bir dağılım gösteren, subkapsüler koagülasyon nekrozları gözlemlendi (Resim-23). Homojen görünümlü, hücre sınırlarının kaybolması ve nükleuslarda karyolizis ile karakterize nekrotik odaklar ile sağlam görünümlü hepatositler arasında tek tük lenfositler görülmekle birlikte

demarkasyon bölgesinin bulunmadığı ve nekrotik odaklar içerisinde sağlam görünümlü eritrositlerin mevcudiyeti dikkati çekti. Nekroz odakları da hiperemilere benzer şekilde belli loplarda lokalize olmayıp, tüm karaciğer loplarda homojen bir dağılım göstermekteydi. Dördüncü ve beşinci gruplarda yer, yer sinusların eritrositlerle dolu görünümüne dışında kaydadeğer herhangi bir lezyon saptanamadı. Kontrol grupları da dahil olmak üzere incelenen karaciğerlerin hemen tümünde, özellikle kan damarlarına yakın bölgelerde, nükleus ve safra kapillerleri arasında lokalize olmuş saydam boşluklu vakuoller mevcut idi. Oil Red O (ORO) boyama yöntemiyle anılan boşluklu parlak kırmızı renkte boyandığından yağ globülleri olarak değerlendirildi.

Böbrek metanefrozlarındaki histopatolojik lezyonlar ise ikinci gruptan başlayıp yedinci gruba kadar devam etmiş olup, intertubuler kapillar damar hiperemileri, proksimal tubulus ve toplayıcı kanal epitellerinde parankim dejenerasyonu, deskuamasyon ve tubulus lumenlerinin dilatasyonu ile karakterize idi.

İkinci grup embriyolarda hafif şiddetteki ve yersel intertubuler kapillar damar hiperemileri, üç, dört ve beşinci embriyo gruplarında yaygınlaşarak ve şiddetlenerek gözlemlendi. Proksimal tubulus ve toplayıcı kanal epitellerinde parankim dejenerasyonu da ikinci gruptan itibaren başlayarak kuluçkanın son gününe dek kaydedildi (Resim-24).

Dördüncü ve beşinci gruplarda tubulus epitel hücrelerinde nekrozlar, tubulus epitel hücrelerinin bazal membranlarından ayrılıp dökülmeleriyle karakterize deskuamasyonlar ve tubulus lumenlerinin dilatasyonları sözkonusu idi. Altıncı ve yedinci embriyo gruplarında lezyonların şiddeti azalarak devam etti.

Mezonefrozlarda birinci gruptan itibaren kontrol grupları da dahil olmak üzere, tubulus epillerinden yaygın dejenerasyonlar ile fokal intertubuler kanamalar tespit edildi.

Koriallantoik membranların histopatolojik muayenesinde; birinci grupta mezenşimal ödem, damarlarda hiperemi ve bölgesel kanamalar gözlemlendi. Ödemler genel olarak mezenşimal damarların çevresinde daha dikkat çekici olmakla birlikte, kontrollere oranla total olarak ve tüm bölümlerinde KAM'nın daha kalın, kaba görünümlü ve bağdoku ipliklerinin birbirinden ayrıldığı gözlemlendi. Hiperemi hem mezenşimal damarlarda, hem de epiektodermal damarlarda oldukça belirgin idi (Resim-25). Üçüncü gruptan itibaren, önceki lezyonlara ilaveten ektodermal epitel hücrelerinde hidropik dejenerasyon (Resim-26) ve yer yer deskuamasyonlar ile mezenşim dokuda mononükleer hücre infiltrasyonları saptandı. Anılan ektodermal epitel hücre lezyonlarının şiddetleri artarak ve yaygınlaşarak sonraki

gruplarda da devam ettiği dikkati çekti. Kontrollerin altıncı ve yedinci gruplarında iç allantoik membranda lokal bir dağılım gösteren epitelyal hücrelerin hidropik dejenerasyonları söz konusu idi. Anılan hidropik dejenerasyonların görüldüğü epitel hücreleri farklı büyüklükte olmaları ve bazılarının adeta bir mikrokist görünümünü kazanmış olmalarıyla enfekte gruplardan farklılık göstermekteydi (Resim-27). Ayrıca kontrol gruplarında ektodermal epitel hücrelerinde deskuamasyon ve mezenşimal dokuda hücre infiltrasyonları gözlenmedi.

İnce ve kalın bağırsakların mikroskopik muayenesinde ise üçüncü, dördüncü ve beşinci gruplarda bağırsak lumeni, villusların çeşitli kesimleri ve stroma boyunca farklı şiddet derecelerinde hemorajiler mevcut idi. Benzer şekilde beyin (pons, optik loplara ve corpus medullare) ve beyincikte de fokal ve/veya yaygın hemoraji odakları mevcut idi (Resim-28). Ayrıca akciğer interstisyumu, hava kapılları, ve parabronşlarda ikinci, üçüncü ve dördüncü gruplarda damarlarda hiperemi ve çevresindeki dokularda konjesyonlar gözlemlendi. Gerek sarıkeseye gerekse allantois boşluğuna inokülasyon yapılmış embriyolarda dördüncü gruptan başlayıp, kuluçkanın son gününe kadar dalak, metanefrozlar ve Harder bezinde çok fazla sayıda ve ilk bakışta primitif proeritroblastlara benzeyen, eozinofilik granüllü, yuvarlak şekilli, heterofil granülositlerden daha büyük görünümde, genellikle damarlara yakın bölgelerde hücre kümeleri gözlemlendi. Anılan bu hücreler farklılaşmakta olan heterofil granülositler olarak değerlendirildi.

3.2.b. Korioallantoik boşluk yoluyla virus inoküle edilen embriyo gruplarında mikroskopik bulgular

Birinci gruptaki embriyolarda BF'un plika epitel hücrelerinde değişen derecelerde deskuamasyon ve subserozal ödemle birlikte kapıllar damar hiperemileri saptandı. Epitel tomurcukları embriyoların çoğunda şekillenmiş olmakla birlikte henüz bağdoku içerisindeki yerini almamış idi.

İkinci grup embriyolarda ödem ile kapıllar damar hiperemilerinin yaygınlaştığı ve lenfoid folliküllerin içerisine lenfositlerin yerleşmeye başladıkları saptandı. Bu grupta enfekte ve kontrollerde lenfoid folliküller arasında çok önemli bir farklılık gözlenmezken, BF'un lümeninde nekrotik hücre artıkları dikkat çekiciydi. Lamina propria ise bu grubun sonlarına doğru heterofil granülositlerin sayıca arttığı gözlemlendi.

Üçüncü grup embriyolarda BF'un tüm kesimlerinde ödem, kapillar damar hiperemileri ile yaygın hemorajilerin varlığı söz konusuydu. Lenfoid folliküller genellikle kontrollere göre daha az lenfosit içeriğine sahip idi.

Dördüncü grup embriyolarda ödem ve hemorajilerin genellikle azaldığı saptandı. Plika epitelinin buruşmuş görünümüleri ile interfolliküler bağ dokuda fibroplazi gözlemlendi.

Beşinci ve altıncı grup embriyoların BF'larında hemoraji ve ödemlerin ortadan kalkmalarına karşın, şiddetli fibroplazi (Resim-29) ile birlikte rejenere, regresif ve glandular olmak üzere üç farklı tipte follikül mevcut idi.

İskelet kaslarındaki mikroskobik lezyonlar birinci grupta ve özellikle but kaslarında intersellüler ödem, ikinci grupta ödem ile birlikte damarlarda hiperemi ve fokal hemorajik odaklardan ibaret idi (Resim-30). Kaslardaki hemorajilerin üçüncü ve dördüncü gruplarda şiddetlenerek ve yaygınlaşarak devam ettiği (Resim-31), ayrıca but, göğüs ve bacak bölgelerindeki derinin subkutis tabakasında da benzer şekilde hemoraji ve ödem gözlemlendi. Beşinci ve altıncı grup embriyolarda ise yer yer hyalin dejenerasyonu, nekroz ve mononükleer hücre infiltrasyonları (Resim-32) ile bazı bölgelerde sadece lenfositlerden oluşan ektopik lenfoid odaklar saptandı.

Karaciğerde; birinci ikinci ve üçüncü grup embriyolarda damarlarda şiddetli hiperemi, sinuzoidlerin eritrositlerle dolarak genişlemiş görünümüleri ile hepatositlerdeki yaygın karyoreksis ve yer yer lenfositlerden oluşan hücre kümelenmeleri en sık saptanabilen lezyonlar (Resim-33) olmakla birlikte, embriyoların bazılarında tek tük fokal subkapsuler koagülasyon nekrozları dikkati çekti. Nekrotik odaklar ile sağlam görünümlü karaciğer bölümleri arasında demarkasyon bölgesinin bulunmadığı ve bunların çevresinde de yaygın hemorajilerin varlığı dikkati çekti. Dördüncü ve beşinci gruplarda karaciğerdeki hemorajik odakların ve damar hiperemilerinin giderek azaldığı, altıncı enfekte grubunda ise kontrollerle kaydedeğer bir farklılığın bulunmadığı saptandı.

Metanefrozlarda intertubuler kapillar damarlarda hiperemi, proksimal ve distal tubulus ile toplayıcı kanal epitellerinde dejenerasyon, nekroz ve deskuamasyona ilgili mikroskobik lezyonlar birinci gruptaki embriyolardan başlayarak hemen hemen tüm gruplarda dikkati çekti (Resim-34). Anılan lezyonlar şiddet ve yaygınlık bakımından üçüncü ve dördüncü gruptaki embriyolarda diğer gruplara göre daha fazla idi.

3.2.c. Enfekte palazlarda gözlenen mikroskobik bulgular

Enfekte palazların BF'larında folliküler ve endodermal epitel hücrelerinin hiperplazileri sonucu lumene doğru papillifer uzantılar oluşturdıkları, kıvrımlar oluşturmuş epitel hücrelerinin arasında yuvarlak boşlukların şekillendiği dikkati çekti. İnterfolliküler bağdokuda heterofil granülosit infiltrasyonları ve fibroplazi de gözlenmiş olmakla birlikte, en önemli lezyonlar bursal folliküllerde idi. Morfolojik olarak rejenere olmuş folliküller, regresif (atrofik) ve glandular folliküller hemen her plikada ve düzenli bir dağılım göstermekteydi. Rejenere olmuş folliküler; diğer follikülere oranla daha büyük çapta olmakla birlikte korteksleri incelmış ve lenfositlerin kontrollere göre daha seyrek olarak bulunduğu folliküller olarak tanımlanabildi. Korteks ve medulla ayrımının yapılmadığı küçük çaplı regresyona uğramış folliküllerin yanı sıra, bazı folliküllerde de bursal epitelin invaginasyonu ya da kortikomedullar epitelin metaplazisi ile bezsel yapıların (glandular folliküller) şekillendiği saptandı. Rejenere olmuş folliküllerin arasındaki bağ doku genellikle normal görünümlü olmakla birlikte, atrofik ve glandular folliküllerin arasında fibröz bağ doku artışı (fibroplazi) gözlemlendi (Resim-35).

Böbrek kanalları ve tubulus epitel hücrelerinde nekroz ile intertubuler kapillar damarlarda hipereminin yanı sıra bazı tubulus lumenlerinin eozinofilik nekrotik artıklar ile adeta tılandığı dikkati çekti. İskelet kaslarında şiddetli distrofi ve yer yer diffuz sarkolemma proliferasyonları gözlemlendi. Diğer organ ve dokularda ise kaydadeğer herhangi bir lezyon gözlemlenmedi.

4.TARTIŞMA VE SONUÇ

IBD genç piliçlerde **BF**'un nekrotik yangısı ve atrofisi (erken involusyonu) ile karakterize viral bir hastalıktır (1, 4, 15, 27, 40, 84). Hastalığa özgü bursal folliküler nekrozların irreverzibl olması, ya da çok sınırlı olması nedeniyle, **IBDV**'u doğal ya da biyolojik bir bursektomi sebebi olarak değerlendirilmiştir (26, 28, 30, 32, 34, 35, 64, 65). Tüm onkojenik ve onkojenik olmayan viruslar hedef organlarının yanı sıra, lenfoid hücrelerde de çoğaldığından değişen derecelerde bir immunosupresyona neden olurlar. **IBD**'de ise; etken, hedef organ olarak **BF**'u seçtiğinden ve bursal lenfositlerde sitopatik etkiler oluşturduğundan primer bir immunosupresyon şekillendirir (1, 15, 26, 28, 30, 31, 40, 43, 50, 91). Periferik B lenfositlerin, **IBDV** etkilerine dayanıklı olmaları, lenfositlerin **BF**'ta histolojik yapılarındaki bir değişim ya da membran reseptörlerinin kaybı ile açıklanmıştır (31, 32).

Kanatlı embriyoları, farklı gelişim dönemlerinde birçok hücre çeşidini birarada bulundurması, embriyonal dönemde tam anlamıyla bağışıklık sisteminin gelişmemiş olması, diğer yöntemlere göre ucuz oluşu gibi nedenlerle infeksiyöz etkenlerin izolasyonunda ve çoğaltılmasında yaygın olarak kullanılmıştır (45, 85). Benzer şekilde **IBDV**'unun embriyolu tavuk yumurtasında prensip olarak üretilmesinin mümkün olduğu kaydedilmiş ve önceleri tavuk embriyosuna inokülasyonlar teşhis amacıyla kullanılmıştır (1, 20, 79, 97). Daha sonraları pratik olması nedeniyle serolojik yöntemler tercih edilmiş (3, 5, 8, 38, 50, 86) olmakla birlikte, **IBDV**'unun organ süspansiyonlarından tespitinde, tavuk embriyosuna inokülasyonun diğer bazı serolojik yöntemlere göre daha güvenilir olduğu kaydedilmiştir (47). Bu çalışma ile bir taraftan onikinci ve onbeşinci kuluçka günlerinde kaz embriyolarında **IBDV**'unun inokülasyonu ile bir taraftan Türkiye'de tavuklardan izole edilmiş yerli **IBDV** izolatının kaz embriyolarında oluşturduğu morfolojik lezyonlar saptanmış, diğer taraftan da elde edilen bulgular farklı izolatların kanatlı türlerinde oluşturduğu morfolojik bulgular ile karşılaştırılmıştır.

Dört kez tekrarlanan deneme sonuçları onikinci kuluçka gününde sarıkeseye, onbeşinci kuluçka gününde allantois boşluğuna yapılan inokülasyonların ölümler ile spesifik morfolojik lezyonlara neden olduğunu göstermiştir. Ölümler her denemeden hemen aynı günlerde ve aynı oranlarda şekillenmiştir (Tablo-5 ve Tablo-6). ESK gruplarında ilk on günde % 36.78 oranında mortalite gerçekleşirken, bu oran EAB gruplarında aynı sürede % 21.82 olmuştur. ESK ve EAB gruplarındaki mortalite oranları arasında gözlenen bu farklılık, tavuk embriyolarında farklı kuluçka günleri ve farklı yollardan **IBDV** inokülasyonlarıyla

mortalite oranının değişebileceği (98) görüşünü desteklemiştir. Emriyolu kaz yumurtalarının karanlık odada muayeneleri sonucu ondördüncü kuluçka gününden önce KAM'nın tam olarak gelişimini tamamlamaması nedeniyle, daha önceki kuluçka günlerinde allantois boşluğuna virus inokülasyonu yapılamamıştır. Tablo-3'ün incelenmesiyle görüleceği üzere **IBDV**'unun tavuk (36, 44, 98) ve Pekin Ördeği embriyolarına (39, 113) inokülasyon sonrası ilk on günde % 70 - 100 oranında mortalite gözlemlenirken, Hint ırkı ördek embriyolarında % 10 oranında mortalitenin şekillendiği bildirilmiştir (7). Benzer şekilde kuluçkadan sonraki dönemlerde de farklı kanatlı türlerinde doğal ve deneysel **IBDV** infeksiyonlarının mortalite oranları ve seyri farklılık gösterebilmektedir (27, 47, 69, 91, 110, 111, 113). Buna göre çalışmada kaz embriyolarında tavuk ve Pekin Ördeği embriyolarından daha az, Hint Ördeği embriyosundan daha fazla oranda mortalitenin şekillenmiş olması diğer faktörlerin yanısıra genetik faktörlerin de etkili olabileceği düşündürmektedir. Virusun tavuk embriyosuna adapte edilmiş olması, virusun dozu ve virulensi de mortalite oranını etkileyen faktörler olarak değerlendirilebilir. Maternal antikor taşıyan tavuk embriyolarında virusun replikasyonu ve dolayısıyla mortalite oranının azalabileceği bildirildiğinden (44), dördüncü denemede kullanılan yumurtaların sağlandığı anaçların serumlarında AGID testi uygulanmış, ancak **IBDV**'u ile reaksiyon veren antikor saptanamamıştır. Piliçlerde rasyon içeriğindeki protein yüzdesi arttıkça, **IBDV** infeksiyonlarının seyri, şiddeti ve mortalite oranlarının da arttığı bildirilmiştir (78). Kaz ve tavuk yumurtalarında, yumurta sarısındaki protein içeriği arasında önemli bir fark saptanmadığından mortalite oranı arasındaki farklılıkların açıklanmasında etkisiz bulunmuştur. Piliçlerde yapılan bir çalışmada **IBDV** infeksiyonlarında ölümlerin böbrek lezyonlarına ilgili olduğu ileri sürülmüştür (66). Bu çalışmada ise enfekte embriyolarda ölümlerin en fazla görüldüğü gruplarda metanefrozlarda dejeneratif ve nekrotik lezyonlarla birlikte, vücudun çeşitli bölgelerinde ortaya konulan hemorajilerin de ölüm sebebi olarak değerlendirilmesi gerektiği kanısına varılmıştır. Buna karşın, yumurtadan çıkan enfekte palazlarda ise klinik olarak ishal, düşkünlük, hareketsizlik gibi klinik semptomlarla birlikte olarak da böbrek tubulus epitel hücrelerinde dejenerasyon, nekroz ve deskuamasyon ile karakterize lezyonlar gözlenmiş olması palazlarda ölüm sebebi olarak böbrek lezyonlarının etkili olabileceğini düşündürmüştür. Ayrıca piliçlerin deneysel **IBDV** olgularında klinik olarak ishal, dehidrasyon, düşkünlük vb. klinik semptomların böbrek lezyonlarının bir sonucu olarak kanda ürik asit düzeylerinin yükselmesine ilgili olduğu kaydedilmiştir (43). Enfekte palazlarda

kan ürik asit düzeyleri saptanmamış olmakla birlikte, anılan klinik semptomların ortaya çıkışı böbrek lezyonlarına ve dolayısıyla da ürik asit düzeylerinin artışına ilgili olduğu söylenebilir.

Embriyo ağırlığı ve but genişliğine ilişkin ortalama değerler ESK gruplarında postinokülasyonun 3-8. günlerinde, EAB gruplarında ise postinokülasyonun 3-6. günlerinde kontrollere ilişkin değerlerin üzerinde ve çoğu kez de istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Tablo-7 ve Tablo-8). Embriyo ağırlığı ve but genişliğindeki anılan farklılıkların oluşumunda vücudun muhtelif yerleri ile özellikle de but bölgesinde yaygın ödemlerin ve hemorajilerin şekillenmiş olması ile açıklanmıştır. Sarıkeseye inokülasyonun dokuzuncu, allantois boşluğuna inokülasyonun ise yedinci gününden itibaren but genişliği ve embriyo ağırlığına ilişkin ortalama değerlerin kontrol grubuna göre düşük düzeylerde kalmış olması, heriki yoldan virus inokülasyonlarının kaz embriyolarında da embriyonal gelişimin yavaşlaması veya durması ile karakterize cüceliğin (dwarfism) şekillendiğine işaret etmiştir (Grafik-1 ve Grafik-3). Bunun yanı sıra, hem ESK ve hem de EAB gruplarında inokülasyon sonrası üçüncü günden başlayarak, tüm gruplarda but uzunluklarına ait ortalama değerlerin kontrollere göre daha düşük değerlerde seyretmiş olması da (Grafik-2) şekillenen cüceliğin bir sonucu olarak değerlendirilmiştir. Ancak, but uzunlukları bakımından kontrol grupları ile aradaki farklılıklar ESK gruplarında matematiksel düzeyde kalırken, EAB gruplarının hemen tümünde istatistiksel olarak da önemli bulunmuştur (Tablo-7 ve Tablo-8). Tablo-3'ün incelenmesiyle görüleceği üzere **IBDV** ile kanatlı embriyolarından yapılan çalışmaların tümünde, virusun embriyonal gelişimin yavaşlaması ya da durması ile karakterize cüceliğin şekillenmesine öncülük ettiği kaydedilmiştir. Tavuk embriyolarında **IBDV** 'unun pasaj sayısı ile embriyonal cüceliğin şekillenmesi ve belirginleşmesi arasında bir korelasyon bulunduğu bildirildiğinden (80), virusun kaz embriyolarındaki seri pasajı ile kaz embriyolarında da cüceliğin daha da belirginleşmesine öncülük etmesi olasıdır. Kuluçka süresince enfekte ve kontroller arasında gözlenen büyüklük farkı, kuluçkadan çıkan palazlar arasında daha da belirginlik kazanmış olup, broyler piliçlerinde de kronik veya subklinik seyirli **IBDV** infeksiyonlarının da yemden yararlanma ve canlı ağırlık kazancını olumsuz yönde etkilediği, buna bağlı % 10-14 oranında verim kayıplarının şekillendiği kaydedilmiştir (51, 52).

Enfekte embriyo gruplarında **BF** ağırlıklarına ilişkin ortalama değerler, inokülasyon sonrası 2-8. günlerde kontrollerin üzerinde saptanırken, dokuzuncu inokülasyon gününden başlayarak hızla kontrollerin altına düşmeye başlamıştır

(Grafik-4). Onaltıncı inokülasyon gününe kadar **BF** ağırlıkları kontrollerin altında seyretmiş ve **BF**'a ilişkin değerlendirmeler istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur. Hem ESK ve hem de EAB gruplarında inokülasyon sonrası 2-8. günlerde **BF** ağırlıklarının kontrollerin üzerinde seyretmiş olması, anılan post-inokülasyon günlerinde **BF**'ta makroskopik ve mikroskopik olarak ortaya konulan ödem ve hemorajilerin bir sonucu olarak değerlendirilebilir. Pekin Ördeği ve tavuk embriyolarında da **IBDV** inokülasyonlarının 2-6. günlerde **BF**'un ağırlığında bir artışa öncülük ettiği bildirilmiştir (39, 44). Bu çalışmada dokuzuncu inokülasyon gününden başlayarak enfekte grup **BF** ağırlıklarının kontrollere ait değerlerin altında seyretmesi ise **IBDV**'unun bursal lenfoid folliküllerin gelişimini engellenmesi ya da baskılanması ile açıklanabilir. Bursal lenfoid folliküllerin gelişimlerinin engellenmesinde; bursal epitelin nekroz ve deskuamasyonu, mezenşim hücrelerinin virusun direkt etkisi ya da ödemin etkisiyle göçünün engellenmesi, prebursal lenfoid köken hücrelerinin viral sitolizisi gibi faktörler göz önünde bulundurulmalıdır. Prebursal köken hücrelerin **IBDV** etkilerine dayanıklı olup olmadığına yönelik herhangi bir araştırmaya rastlanmamış olmakla birlikte, bu çalışmada timus ve dalaktaki lenfoid hücrelerde herhangi bir lezyon saptanmamış olması ve prebursal köken hücrelerinde IgM yüzey antijenlerinin bulunmadığı görüşüne (23) dayanarak prebursal hücrelerin virusun etkilerine dayanıklı olduğu söylenebilir. Ancak bu konuya yönelik olarak yapılan bir çalışmada da sarıkeseden lenfoid organlara göç eden prebursal lenfoid hücrelerden sadece **BF**'a yerleşen köken hücrelerinin IgM yüzey antijeni taşıdıkları (77) ve **IBDV**'unun invitro olarak çok çeşitli hücre tiplerinde replike olduğu gerçeğinden (113) hareketle, bu konuda elektronmikroskopik ve immünohistokimyasal çalışmaların yapılmasını yararlı olacağı kanaatine varılmıştır.

Kanatlılarda embriyonal dönemde heterofil granülositler esas olarak dalak ve metanefrozların mezenşiminde farklılaşmakla birlikte timus, kemik iliği, **BF**, **KAM**'nın da heterofil granülositlerin farklılaşmasında rol oynadığı bildirilmiştir (85). Bu çalışmada da enfekte ve kontrol grubu embriyolarda metanefrozların subkapsüler mezenşimal dokusunda, dalakta beyaz pulpada ve timusta diğer dokulardan (**BF** ve **KAM**) daha büyük çaplı, eozinofilik granüllü, oval bazofilik nükleuslu görünümleriyle karakterize farklılaşmakta olan heterofil granülositlerden oluşan hücre kümelerine rastlanılmıştır. Buna karşın gerek sarıkeseye gerekse allantois boşluğuna yapılan inokülasyonların beşinci gününden itibaren **BF** ve **KAM**'da heterofil granülositlerin sayıca artışına öncülük ettiği saptanmıştır. Kontrol grubu embriyolarda onaltıncı kuluçka gününden

itibaren **BF** mukozasının mezenşiminde ve genellikle tunika muskularise yakın kesimlerinde tek tük olarak heterofil granülositler saptanmış olmasına karşın, enfekte embriyolarda heterofil granülositlerin **BF** mezenşiminin tüm kesimlerinde sayıca artmasının yanısıra, bazı embriyolarda bursal lümene de infiltrate olduğu gözlenmiştir. İnokülasyonun onuncu gününden itibaren önceki gruplara göre azalmış olmakla birlikte, enfekte embriyolarda tüm kuluçka süresince kontrollerin aksine interfolliküler bağdoku ve hatta lenfoid folliküllerde de heterofil granülositlerin gözlemlenmesi virusa ya da nekrotik ürünlere bağlı olarak şekillenen antijenik uyarımlar karşı lokal olarak zaten varolan heterofil granülositlerin proliferasyonu ile ya da **BF**'a infiltrasyonları ile açıklanabilir. **KAM**'da ve **BF**'ta heterofil granülositlerin sayıca artmasına karşın, heterofil granülositlerin farklılaşmasında rol oynamadığı bilinen organlarda (karaciğer, iskelet kası) nekrotik ve dejeneratif lezyonlar saptanmış olmasına rağmen, heterofil granülositlere rastlanılmamış olması bunların lokal olarak proliferasyonlarını doğrular niteliktedir. Benzer şekilde heterofil granülositlerin memelilerdeki nötrofil lökositlere benzer fonksiyonlar üstlendiği (105) ve kanatlı embriyolarına virus inokülasyonlarında lenfositlerin yangısal reaksiyonlara iştirak ettiği ve heterofil granülositlerin genellikle bakteriyel ve paraziter etkenlere karşı şekillenen yangısal olaylarda yangı bölgesine infiltrate olduğu kaydedilmiştir (45, 85). Tavuk embriyosunda yedinci ve onuncu kuluçka günlerinde **IBDV** inokülasyonlarının **BF**'ta heterofil granülositlerin sayısında artışın gözlenmemiş olması ise (36,40), heterofil granülositlerin tavuk embriyolarında 16-18. kuluçka günlerinde farklılaşmaya başlaması (85) ve/veya tavuk embriyolarının 7-10. kuluçka günlerinde yangısal proseslerin eksikliği ile açıklanabilir. Piliçlerde **IBDV**'una ilgili çalışmalarda **BF**'un yanısıra dalak, karaciğer ile böbreklerde de heterofil granülosit infiltrasyonlarının görüldüğü (11, 27,48) ve kanatlılarda heterofil granülositler embriyonal dönemde kan dolaşımındaki total granülositlerin % 70'den fazlasını oluşturduğundan (85), bunların lokal şemotaktik maddelerin etkisiyle de bölgeye infiltrate olduğu da düşünülebilir. Heterofil granülositlerin sitoplazmalarındaki eozinofilik granüllerin elektronmikroskopik çalışmalarda lizozomlardan oluştuğu (105), yine elektronmikroskopik çalışmalarda virusun heterofil granülositlerin lizozomlarında saptandığı bildirilmiştir (48). Diğer taraftan **IBDV**'unun bazı izolatlarının piliçlerde **BF**'ta heterofil granülosit infiltrasyonlarına neden olurken, bazılarının da heterofil granülosit infiltrasyonlarına öncülük etmediği dikkati çekmiş (Tablo-2) ve yapılan bir çalışmada da **IBDV**'unun bu özelliği ortaya konulmuştur (90).

Piliçlerde yapılan çalışmalarda **IBDV** infeksiyonlarına bağlı bursal folliküllerin nekrozu sonrasında (11, 12, 26, 79) ve bazı kimyasal maddelerle **BF**'un kuluçkadan sonraki dönemlerde gelişiminin önlenmesi (23, 99) ile makrofaj, lenfosit ve plazma hücrelerinin de interfolliküler bağ dokuya infiltre oldukları kaydedilmiştir. Bu çalışmada kaz embriyolarının **BF**'larında anılan hücrelere rastlanmamış olması ise yangısal ve bağışıklık yanıtının gelişimini tamamlamadığına işaret etmiştir.

Genel olarak inokülasyon sonrası 3-8. günlerde vücut kaslarında, böbreklerde, bağırsaklarda, **BF**'ta, **KAM**'da, beyinde, dalakta ve diğer organlarda gerek onikinci günde ve gerekse ondördüncü. günde inokülasyon yapılan embriyo gruplarında tespit edilen ödem ve/veya hemorajiler **IBD**'ye ilgili embriyolojik çalışmalarda da tespit edilmiştir (36, 39, 44, 98). Harder bezinde asinus ve bez lumenlerindeki hemorajiler dışında bir bulguya rastlanmamıştır. Kuluçkanın son günlerinde bezler arasındaki asiner bölgede tek tük lenfosit kümeleri görülmekle birlikte methyl green pyronin boyama yöntemiyle plazma hücreleri de saptanamamıştır. **IBDV** inokülasyonlarının ve embriyonal bursektomi uygulamalarının bir aylık piliçlerde Harder bezindeki plazma hücrelerinde azalmaya neden olduğu (9, 10) dikkate alındığında, embriyonal dönemde **IBDV** inokülasyonlarının da benzer lezyonlara sebep olabileceği beklenebilir. Bu amaçla allantoik boşluğa virus inoküle edilen kaz embriyolarının kuluçkadan çıkışı sağlanmış ancak sözü edilen palazların onbeş günden fazla yaşaması mümkün olamamıştır. Kontrol grubu palazlarında da plazma hücreleri tespit edilemediğinden, **IBDV**'unun Harder bezi plazma hücre içeriğine olan etkileri değerlendirilememiştir. Enfekte palazlara benzer şekilde, onsekiz günlük tavuk embriyolarına dört farklı **IBDV** izolatu aşısı suşunun inokülasyonu ile kuluçkadan çıkış oranının etkilenmediği, ancak izolatlardan iki tanesinin % 38 ve % 50 oranlarında ve kuluçkadan çıkışın ilk haftasında akut ölümlerle karakterize klinik hastalık tablosuna neden olduğu vurgulanmıştır (89). Tavuk embriyolarında antijenik uyarımların sonucu olarak Harder bezinde Russel cisimciklerinin oluşabileceği bildirilmiş olmakla birlikte (106), bu çalışmada adı geçen oluşumlara da rastlanmamıştır.

Karaciğerin dış yüzünde sınırlı kalan ve gri-beyaz çizgilenmeler ile karakterize, mermer ya da mozaik tarzındaki makroskobik görünümü, mikroskobik olarak fokal subkapsüler nekroz odaklarından ibaret olmuş ve hem sarıkeseye, hem de allantoik boşluğa virus inokülasyonu sonrası 3-8. günlerde gözlenmiştir. Benzer şekilde piliçlerde deneysel **IBDV** olgularında da karaciğer

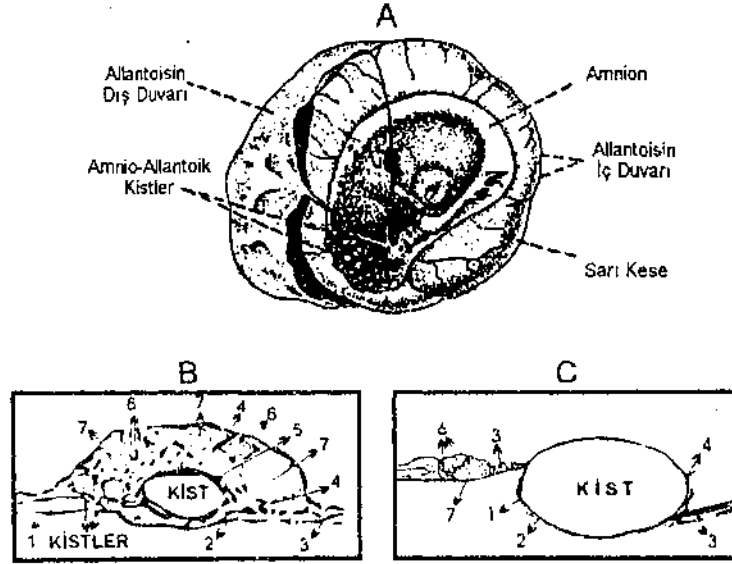
nekrozları (3, 7, 11, 13) ile karaciğer enzimleri (LDH, SGOT) ve kolesterol düzeylerindeki değişimlerin inokülasyon sonrası ilk günlerde şekillendiği kaydedilmiştir (11). Kimi araştırmacılar tarafından tavuk embriyolarında saptanan ve karaciğerin tamamen yeşilimsi renkteki görünümüyle karakterize, makroskopik lezyonlar bu çalışmada gözlenmemiş olup, sözü edilen lezyonların subkapsüler koagulasyon nekrozlarının yaygınlaşması ile oluştuğu ileri sürülmüştür (64). Karaciğerde nekrotik odaklar ile normal görünümlü hepatositler arasında lenfositlerden oluşan infiltrasyon bölgelerine, tavuk embriyolarında (44) olduğu üzere rastlanmamıştır. Tavuk embriyosunda infiltre olan hücrelerin B lenfositlerden oluştuğu varsayılarak, B lenfositlerin BF'taki gelişimlerinin önlenmiş olması nedeniyle hücre infiltrasyonlarının şekillenmediği ileri sürülmüştür (44). Bu çalışmada ise subkapsüler, fokal karaciğer nekrozları her iki yolla virus inoküle edilmiş embriyoların ikinci ve üçüncü gruplarında (inokülasyon sonrası 4-8. günler) saptanmış olup, sözü edilen kuluçka günlerinde diğer organ ve dokularda da (iskelet kasları, KAM) lenfosit infiltrasyonları gözlenmemiştir. Ayrıca tavuk embriyolarında BF'taki gelişimlerini tamamlayan post-bursal lenfoid hücrelerin ondokuzuncu kuluçka gününden itibaren kan dolaşımına karıştıkları ortaya konulmuştur (77, 81, 83). Buna göre karaciğerde lenfositlerden oluşan demarkasyon bölgelerinin gözlenmemesi, bursal lenfoid folliküllerin virus etkisiyle gelişiminin engellenmesi ve/veya yeterli sayıda post-bursal hücrenin gelişimini tamamlayarak perifer kan dolaşımına karışmamış olması ile açıklanabilir. Nitekim karaciğer nekrozları çevresinde ve genişlemiş sinuzoidler içerisinde yer yer lenfositlerden oluşan hücre kümelerinin görülmüş olması da bu görüşü doğrular niteliktedir. KAM ve iskelet kaslarında inokülasyonun sekizinci ve onuncu günlerinde gözlenen lenfosit infiltrasyonları ya da ektopik lenfoid odaklar ise, bursal follikülerde ortaya konulan rejenerasyonlar ile açıklanabilir. Gerek embriyolojik çalışmalarda (7, 39, 44, 80, 103), gerekse piliçlerde bildirilen doğal ve deneysel infeksiyonlarda (1, 6, 14, 15, 26, 107, 111) karaciğerde saptanan (olguların yaklaşık % 50'sinde) koagulasyon nekrozlarına yine karaciğerdeki dolaşım bozukluklarının (hiperemi, konjesyon, hemoraji) eşlik ettiği ve bu lezyonların infeksiyonun genellikle başlangıç dönemlerinde gözlemlendiği düşünülürse, karaciğerdeki koagulasyon nekrozlarının hipoksi ya da anoksinin bir sonucu olarak şekillendiği görüşü (64) kabul edilebilir. Benzer şekilde tavuklarda şiddetli hemorajilere bağlı anemi ve hindilerdeki hemorajik enteritis olgularında şekillenen anoksinin bir sonucu olarak, karaciğerde subkapsüler koagulasyon nekrozlarının görülebileceği kaydedilmiştir (85). Ayrıca

piliçlerdeki deneysel infeksiyonlarda inokülasyon sonrası 2-6. günlerde karaciğerden virus izolasyonları da yapılabilmiş (43, 47,101) olmakla birlikte, immunoflorasan yöntemi ile virusun sadece karaciğerin Kupffer hücrelerinde bulunduğu ortaya konulmuş olduğundan (40, 54), koagülasyon nekrozlarının virusun direkt etkisiyle oluşabileceği mümkün görülmemektedir. Piliçlerde yapılan çalışmaların bir kısmında hepatositlerde yağ dejenerasyonlarının görüldüğü kaydedilmiştir (4, 11, 27). Bu çalışmada ise hem kontrol ve hem de enfekte grupların tümünde hepatositlerin sitoplazmalarında yağ damlacıklarının varlığı saptandığından, bu yönüyle enfekte ve kontroller arasında bir karşılaştırma yapılamamıştır. Nitekim, kanatlılarda embriyonal dönemin altıncı gününden başlayarak kuluçka çıkışından sonraki 1-2 haftalık döneme kadar hepatositlerde yağ damlacıklarının görülmesi; yumurta sarısının yağdan zengin olması ile östrojen ihtiva etmesine dayandırılmış ve fizyolojik olarak değerlendirilmiştir (84, 85). Yumurtacı piliçlerin de yumurtlama döneminin başlamasıyla kanda yükselen östrojen düzeylerinin hepatositlerde yağ damlacıklarının birikimine öncülük ettiği bildirilmiştir (84).

Doğal ve deneysel **IBD**'ye ilgili çalışmalarda (39, 66, 70, 88) iskelet kaslarında makroskobik olarak saptanan hemoraji ve ödem ile mikroskobik olarak konjesyon, ödem, hemoraji, hyalin dejenerasyonu, nekroz ve mononükleer hücre infiltrasyonları ile karakterize lezyonlar bu çalışmada kaz embriyolarında da saptanmış olup, anılan bulgular literatür bildirimleri ile uyumlu bulunmuştur. İskelet kaslarında kuluçka süresinin genellikle son günlerinde saptanan mononükleer hücre infiltrasyonları ile bazı bölgelerde saptanan ve lenfositlerden oluşan hücre kümelerine piliçlerde yapılan çalışmalarda (43, 66, 70) da rastlanmış ve ektopik lenfoid odaklar olarak değerlendirilmiştir (43). Buna karşın; piliçlerde ve tavuk embriyolarında ektopik lenfoid odakların kalp, beyin, karaciğer ve iskelet kaslarında çevre ya da kuluçka derecesinin arttırılmasıyla da şekillenebileceği bildirilmiş olup, savunma mekanizmasının bir reaksiyonu olarak değerlendirilmiştir (12). Bu çalışmada lenfoid ektopik odaklara, sadece enfekte grupların iskelet kaslarında ve bazı embriyoların da karaciğerlerinde saptanmış olup, kontrol grubu embriyolarda anılan oluşumlara rastlanamamıştır. Benzeri lenfosit kümelerinin varlığına **IBDV**'u inoküle edilmiş tavuk ve Pekin Ördeği embriyolarının karaciğerlerinde de gözlemlendiği bildirilmiştir (39, 44) Ektopik lenfoid odakların görülmesi de lokal antijenik uyarımlar ile açıklanabilir. Embriyolarda **IBD**'ye ilgili yapılan çalışmalarda diğer organ ve dokuların yanısıra iskelet kaslarında da şekillenen hemorajiler ve

ödemler piliçlere göre daha şiddetli ve yaygın olarak ortaya çıkmıştır. Piliçlerde genellikle lokal olarak (iç gluteal kaslarda) ve fokal bir dağılım gösteren iskelet kaslarındaki kanamalar (6, 70, 74, 88, 90) sarıkeseye inokülasyon yapılmış embriyolarda birinci grupta lokal olarak karın altı ve but kaslarında gözlenen lokal kanamaların giderek şiddetlenerek ve yaygınlaşarak üçüncü ile dördüncü gruplarda hemen tüm vücut kaslarına yayıldığı saptanmıştır. Allantois kesesine inokülasyon yapılan embriyolarda ise lokal hemorajilerin ikinci grupta başladığı üçüncü ve dördüncü gruplarda tüm vücut kaslarına yayıldığı dikkati çekmiştir. Genel olarak her iki yolla virus inoküle edilen embriyoların altıncı ve yedinci gruplarında kaslardaki hemorajilerin azalarak kaybolmasına karşın, sarıkeseye virus inokülasyonunun, allantois boşluğuna göre daha şiddetli ve yaygın hemorajilere öncülük ettiği saptanmıştır. Enfekte palazların iskelet kaslarında gözlemlenen yaygın sarkolemma proliferasyonları rejenerasyona yönelik girişimler olarak değerlendirilmiştir. Boyun bölgesi kaslarından musculus complexus'ta normal kanatlı embriyolarında intersellüler ödem, hemoraji ve nekrozların henüz tam olarak bilinemeyen bir mekanizma ile ve de fizyolojik olarak şekillendiği bildirilmiştir (84). Bu gerekçe ile anılan kas grupları, herhangi bir yanlışlığa meydan vermemek için makroskobik ve mikroskobik değerlendirmelerin dışında tutulmuştur.

Ördek ve tavuk embriyolarında (7,103) **IBDV**'unun korioallantoik membranda replike olduğu gösterilmiş ve histopatolojik olarak bu çalışmada elde edilen bulgulara benzer şekilde, yapılan diğer çalışmalarda da KAM'da ödem, hemoraji, lenfosit infiltrasyonları, ektodermal epitel hücrelerinde hidropik dejenerasyonlar bildirilmiştir (7, 20, 39, 103). Doku kültüründe seri pasajlardan sonra **IBDV**'unun tavuk embriyosu KAM'ında hidropik dejenerasyonlara öncülük etmemesi (20) ise, virusun doku kültürüne adaptasyonu ile açıklanabilir. Ayrıca KAM'nın ektodermal epitel hücrelerinde hidropik dejenerasyon ve kistik oluşumların kanatlı embriyolarında viral etkenlere bağlı olabileceği gibi, fizyolojik olarak da görülebileceğinden titizlikle değerlendirilmesi öngörülmüştür (85). Bu çalışmada, kontrol gruplarında KAM epitel hücrelerinde gözlenen hidropik dejenerasyonlar genellikle kuluçkanın son günlerinde (25, 26 ve 27. günler) sınırlı kalmış olup, hidropik dejenerasyonların yanısıra mikrokistik yapılar da gözlemlenmiştir. Ayrıca kontrol gruplarının KAM'larında hücrel infiltrasyon, hemoraji, ödem ve epitel deskuamasyonuna rastlanmadığı gibi, saptanan mikrokistikler literatür bildirimlerine (Şekil-7 ve Şekil-8) uygun olarak iç allantoik membranda sınırlı kalmıştır.



Şekil-7: Kanatlı embriyosunda allantoisin iç duvarı ve amnionun birleşmesiyle şekillenen kistlerin şematik görünümü (85).

A-Amnioallantoik kistlerin embriyodaki lokalizasyonu,

B-Başlangıç aşamasında amnio-allantoik kistlerin histolojik yapısı,

C-Gelişimini tamamlamış bir kistin histolojik görünümü.

1-Amnion ektodermi,

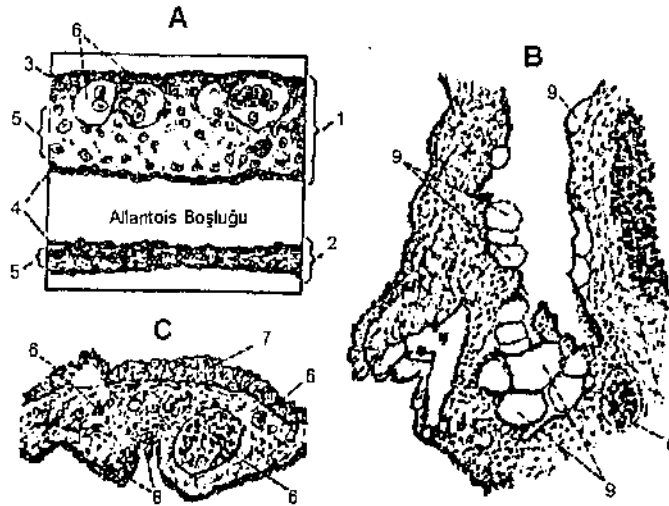
2-Amnion kasları,

3-Amnion ve allantoisin birleşme noktaları,

4-Allantoisin entodermi,

5-Allantois kasları,

6-Kan damarları, 7-Lenf damarları.



Şekil -8: Kanatlı embriyolarında allantoik kesenin histolojik yapısı (85). 1-Korioallantois, 2-İç allantoik membran, 3-Ektoderm, 4-Endoderm, 5-Mezoderm, 6-Kan damarları, 7-Ektodermal proliferasyon, 8-Endodermal proliferasyon, 9-Endodermal veziküller.

Piliçlerde ve embriyolarda yapılmış olan çalışmalara benzer şekilde bu çalışmada da birçok organ ve dokuda (BF, dalak, Harder bezi, KAM, karaciğer, iskelet kasları, beyin, beyincik ve bağırsaklarda) hemorajiler saptanmıştır. Damarlarda herhangi bir lezyona rastlanmamasına karşın, hemorajilerin birçok organ ve dokuda gözlenmiş olması, perdiabetik özellikteki kanamalara benzerlik göstermiştir. Kanamalar ile birlikte ve özellikle sakral bölgede ödemler virusun lenf dolaşımını da etkileyebileceği görüşünü (44) desteklemiştir. Embriyonal çalışmalarda piliçlere göre hemorajilerin daha şiddetli ve yaygın olduğu dikkati çekmiştir. Piliçlerde vücudun çeşitli kesimlerinde şekillenen hemorajilerin pıhtılaşma bozukluğunun bir sonucu olarak geliştiği bildirilmiş olmakla birlikte, kesin olarak oluşum mekanizmasına ilişkin farklı görüşler ileri sürülmüştür. Bazı araştırmacıların ileri sürdüğü bursal lenfoid folliküllerdeki nekrotik artıkların kana karışmasıyla pıhtılaşma mekanizmasının bozulabileceği görüşü, bu çalışmada kaz embriyolarında da gözlenen hemorajilerin sebebi olarak değerlendirilememiştir. Benzer şekilde tavuk embriyolarında da henüz lenfoid folliküllerin epitel tomurcuk aşamasındaki kuluçka günlerinde (9-10. kuluçka günleri) hemorajilerin gözlemlendiği bildirilmiştir (36, 44). Ayrıca deneysel IBDV'una ilgili çalışmalarda embriyolojik bursektomi uygulanmış dört haftalık piliçlerde ve BF'un total olarak yokluğu durumunda hemorajilerin gözlenmediği kaydedilmiştir (70).

İmmün kompleks oluşumu ile memelilerdekine benzer Arthus reksiyonlarına ne bu çalışmada ne de IBD'ye ilişkin diğer patolojik çalışmalarda rastlanmamıştır. Pekin Ördeği embriyolarında görüldüğü bildirilen karaciğerdeki diffuz koagülasyon nekrozlarının hemorajilere öncülük edebileceği bildirilmiş olmakla birlikte (39), bu çalışmada nekrozlar gerek ESK ve gerekse EAB gruplarında genellikle fokal olarak gözlenmiş olup, ayrıca EAB gruplarında karaciğer nekrozlarının gözlemlenmediği embriyolarda da vücudun çeşitli kesimlerinde hemorajilere rastlanmıştır. Buna göre, hemorajilerin oluşum mekanizması, kaz embriyolarında sadece karaciğer nekrozları ile açıklanamamıştır.

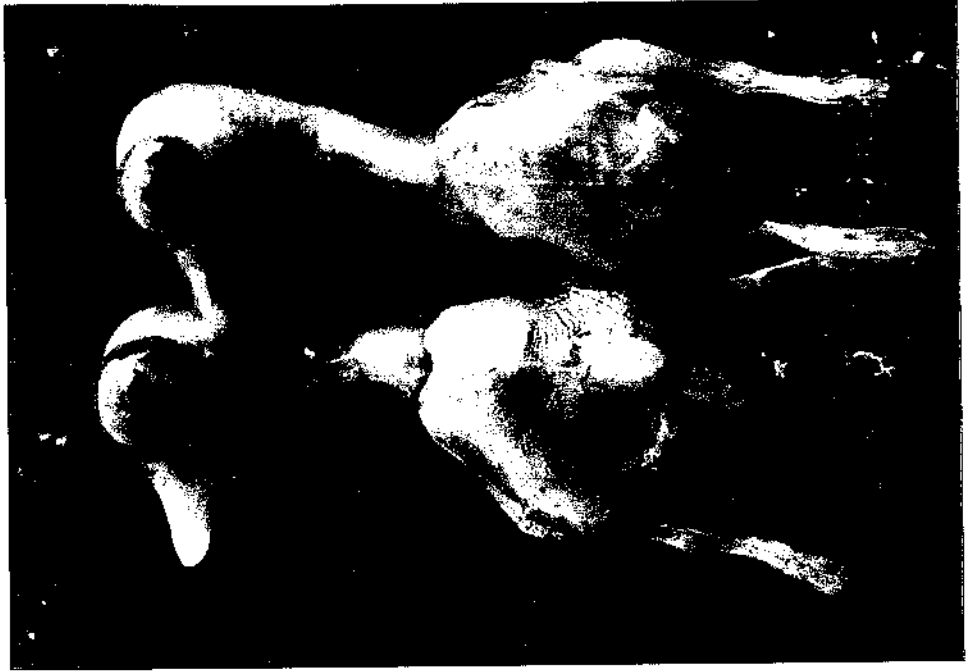
Tavuk embriyolarında onsekizinci inkübasyon gününde IBDV'unun aşı suşunun allantoik boşluğa inoküle edilmesini takiben akciğerlerde immünoflorasan yöntemiyle virusun varlığı gösterilmiş, virusun akciğerlere solunum yoluyla alınabileceği ileri sürülmüştür (89). Bu çalışmada ise akciğerlerde belli gruplarda intersitisyel hiperemi dışında herhangi bir lezyon saptanamamıştır. Ayrıca akciğerlerin kanatlı embriyolarında kuluçka süresinin ancak son günlerinde solunum organı olarak fonksiyon üstlendiği gözönünde bulundurulduğunda (85), kaz embriyolarının solunum yoluyla infeksiyonu olası görülmemiştir.

Sonuç olarak diğer birçok kanatlı embriyolarında olduğu üzere kaz embriyolarına da IBDV inokülasyonlarının ölümlere ve spesifik morfolojik lezyonlara öncülük ettiği saptanmıştır. Birçok organ ve dokuda (iskelet kasları,

deri, derialtı, **BF**, **KAM**, bağırsak ve metanefrozlar) gözlenen ödem ve hemorajiler, karaciğerin mermer manzarasındaki görünümü ve embriyonal cücelik gözlenen belli başlı makroskobik bulgular olmuştur. Mikroskobik olarak ise; makroskobik olarak gözlenen lezyonların yanısıra, **BF**'ta lenfoid folliküllerin gelişimlerinin baskılandığı interfolliküler bağdokuda heterofil granülositlerin sayıca arttığı, rejenere, glandular ve regresif olmak üzere üç farklı mikroskobik görünümde lenfoid folliküllerin varlığı ve interfolliküler bağdokunun arttığı saptanmıştır. Ayrıca karaciğerde subkapsüler koagülasyon nekrozları, iskelet kaslarında hyalin dejenerasyonu, nekroz, mononükleer hücre infiltrasyonları ile ektopik lenfoid odakların varlığı, metanefrozlarda tubulus epitel hücrelerinde dejenerasyon, nekroz ve mononükleer hücre infiltrasyonları saptanmıştır. Kullanılan kaynaklar ve literatür çalışmalarında kaz palazlarında ve kaz embriyolarında **IBD**'ye ilişkin deneysel bir araştırmaya rastlanmamıştır.

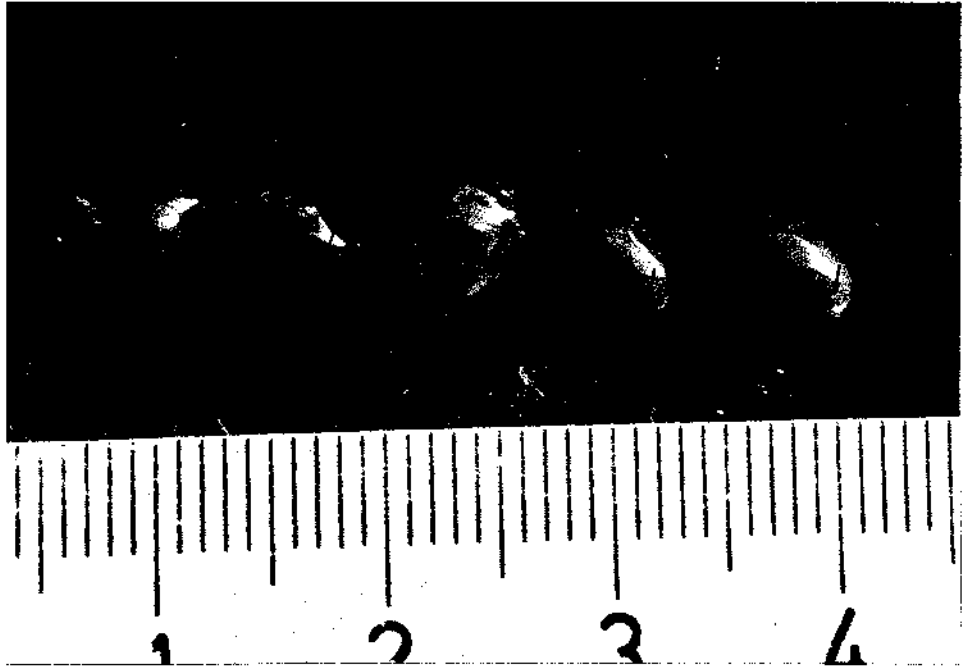
Kaz embriyolarının farklı inkübasyon günlerinde **IBDV** inokülasyonu sonrasında yapılacak immunohistiyokimyasal, elektronmikroskobik ve izolasyona yönelik çalışmalar ile virusun afinite gösterdiği hücrelerin saptanması, kaz embriyolarından hazırlanacak doku kültürlerinde **IBDV** 'una ilgili invitro çalışmalarda seçilecek hücre tiplerinin belirlenmesi bakımından yararlı olacağı, ayrıca kaz palazlarında da **IBDV** inokülasyonu ile serolojik, virolojik ve morfolojik yöntemler kullanılarak deneysel araştırmaların yapılması gerektiği kanısına varılmıştır.

5. RESİMLER

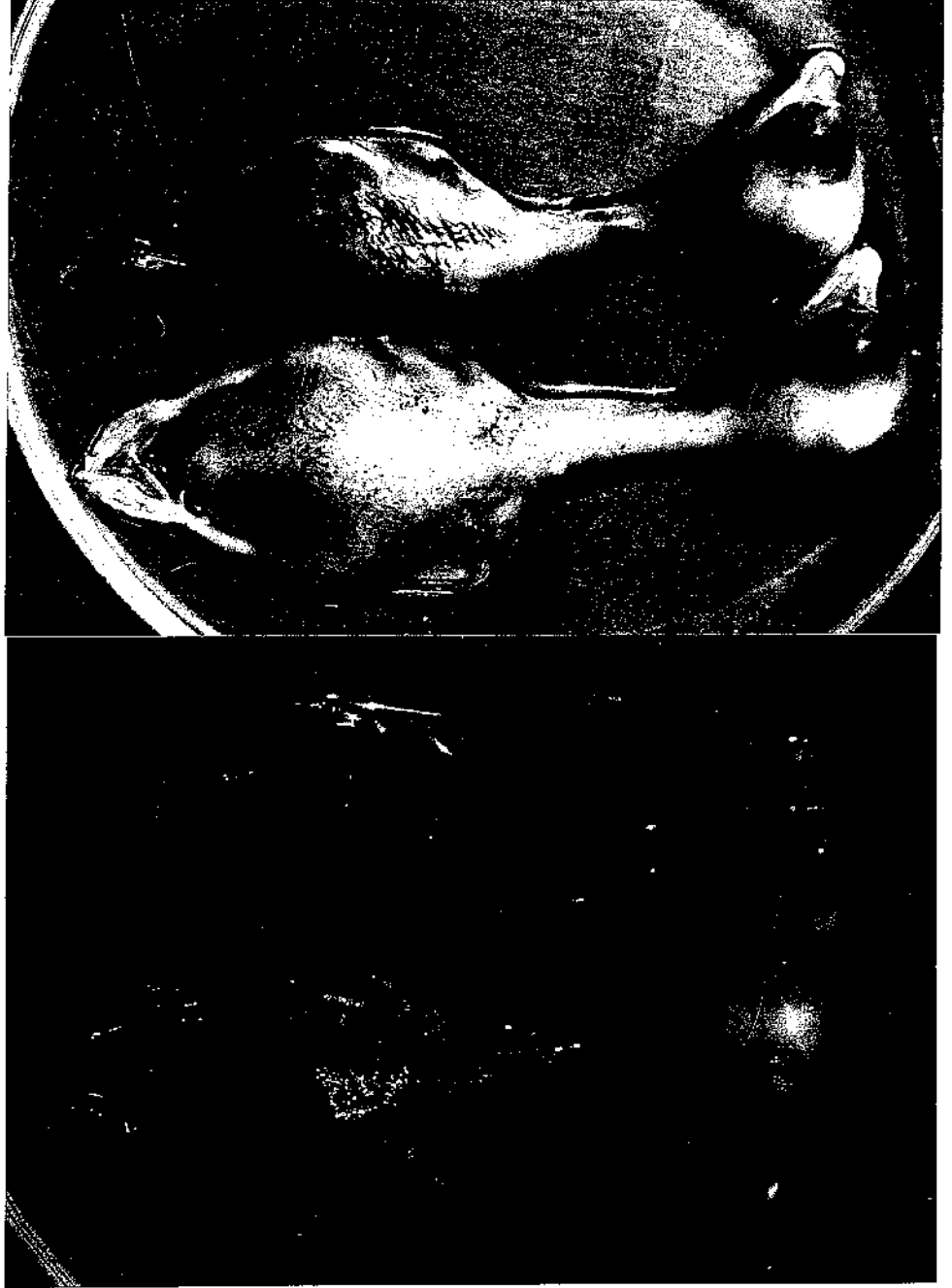


Resim-1: Kloaka bölgesinden başlayıp, karın duvarına doğru yayılan ödemin yanısıra BF ile çevresindeki dokuların şişkin görünümü.

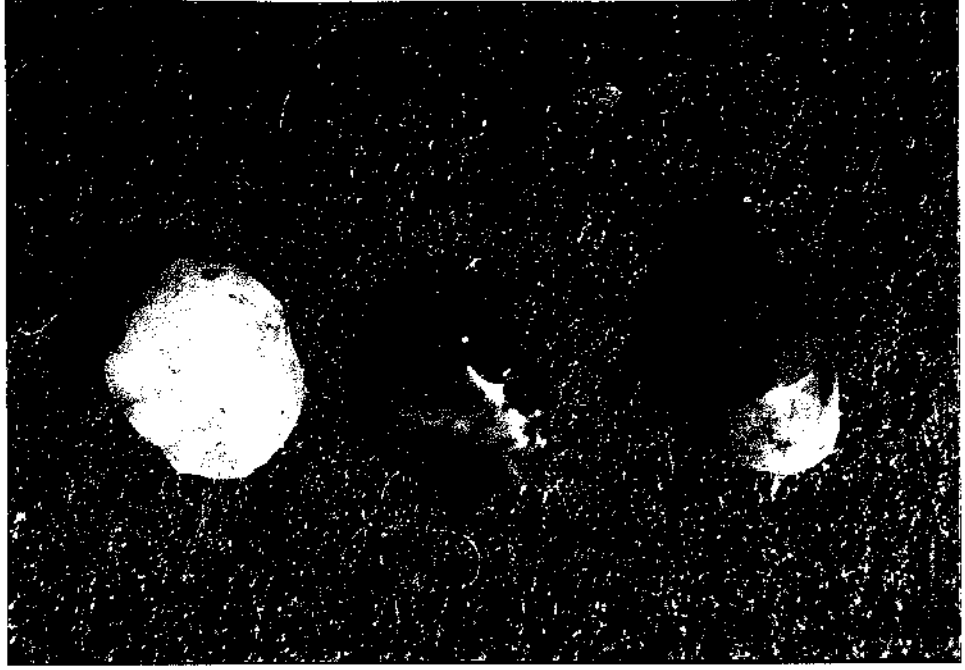
a) ESK-I. Grup, 15. kuluçka günü b) Kontrol



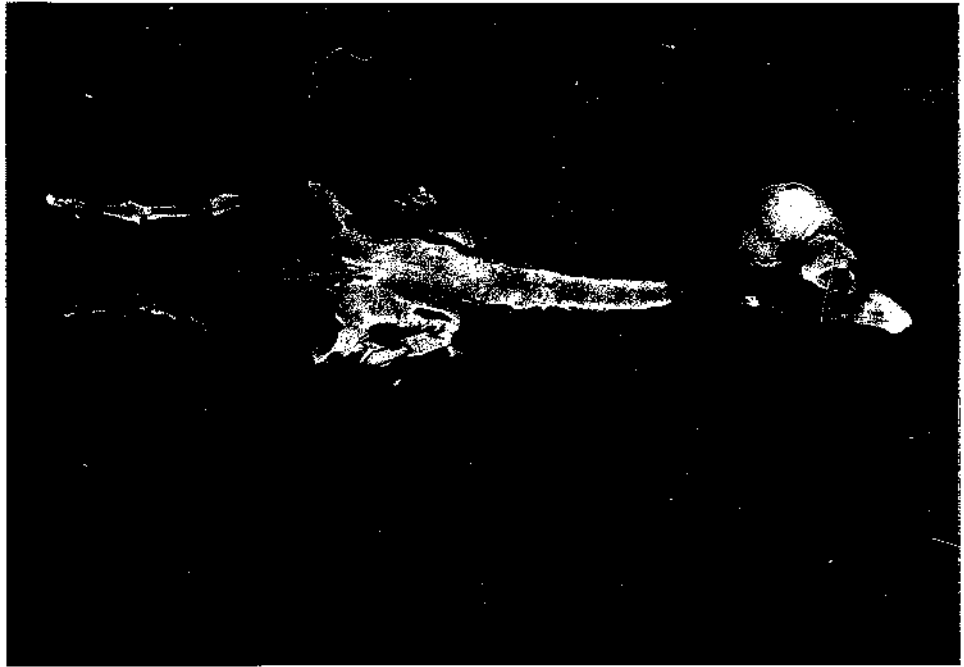
Resim-2: Karaciğer loblarında subkapsüler, gri-beyaz renkte çizgilenmeler ile karakterize mozaik tarzı görünüm (ESK I. - Grup, 15. kuluçka günü).



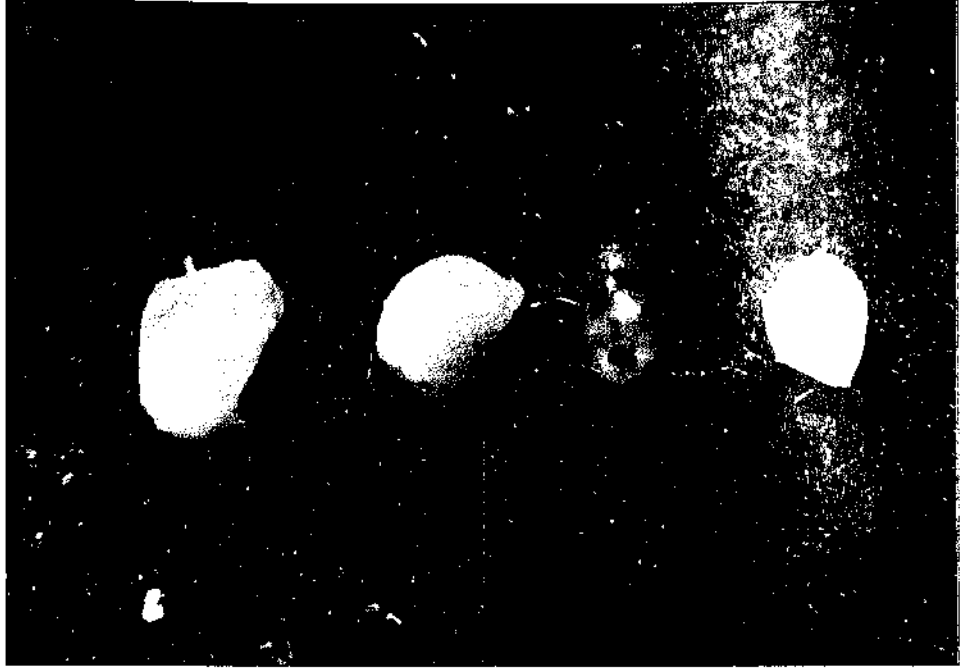
Resim-3,4: Enfekte embriyolarda deride, deri altında yaygın ödem ile kanamalar.
a) Kontrol b, c, d) ESK-II. Grup, 17. kuluçka günü



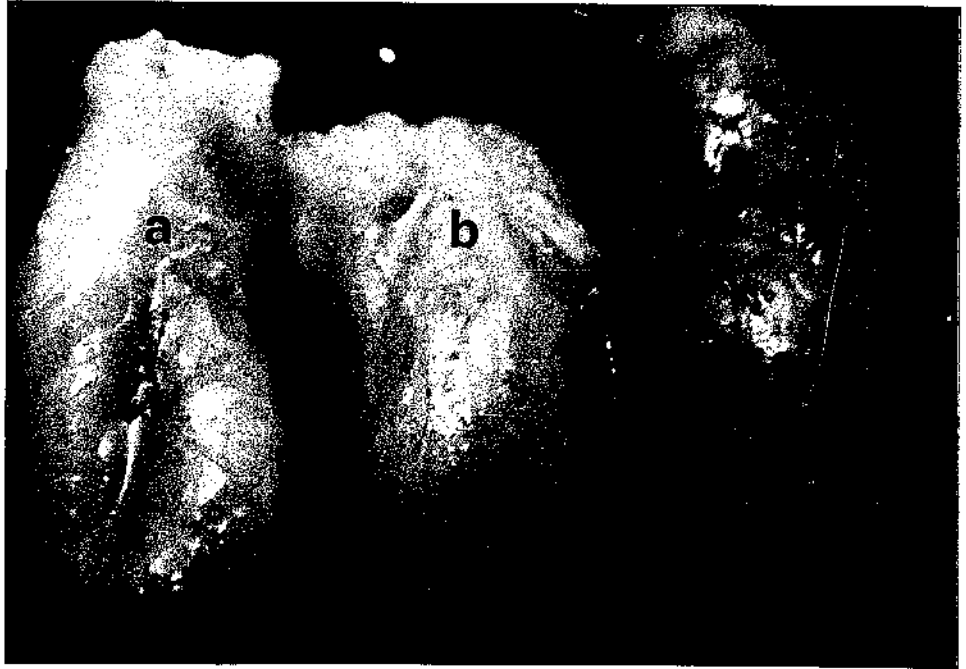
Resim-5: Enfekte embriyolarda BF'nin seröz yüzeyinde diffuz hemoraji ve ödem.
a, b) ESK - III. Grup c) KAM-II. Grup (19. kuluçka günü)



Resim-6: Enfekte embriyoda tüylerin uzaklaştırılmasından sonra ortaya konulabilen yaygın hemorajiler ile şiddeti azalan bir ödemin varlığı görülmekte (ESK-III. Grup, 20. kuluçka günü).



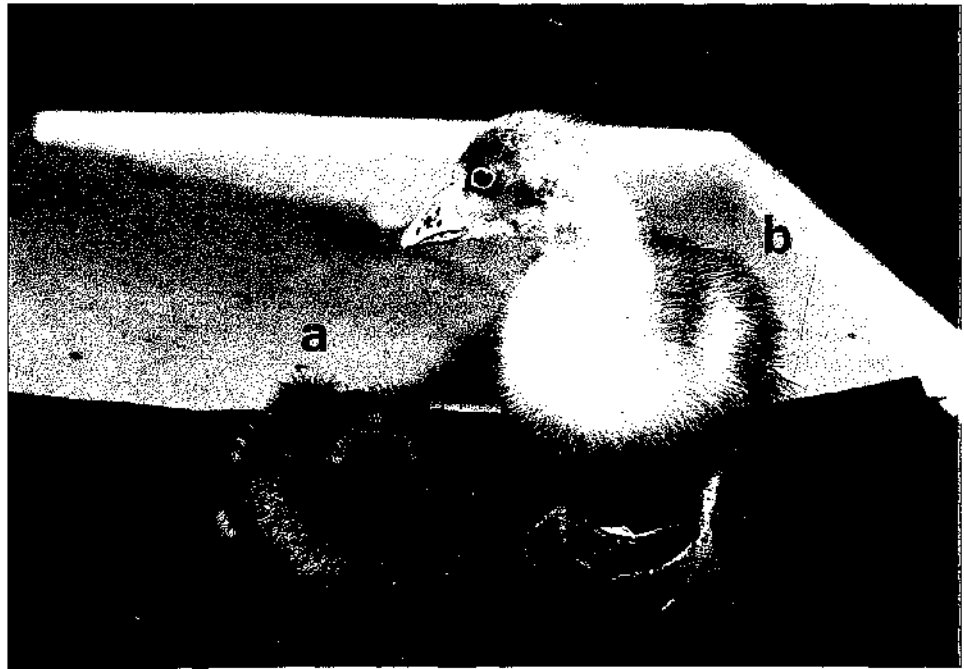
Resim-7: Enfekte embriyo BF'larında ödem ve kontrollere göre oldukça hiperemik görünüşleri
a, b, c) ESK-IV. Grup, 22. kuluçka günü d) Kontrol



Resim-8: BF'ların kontrollere göre küçük ve adeta içi boşalmış görünüşleri.
a) ESK-VII grup, 28. kuluçka günü b) EAB-VI grup c) Kontrol



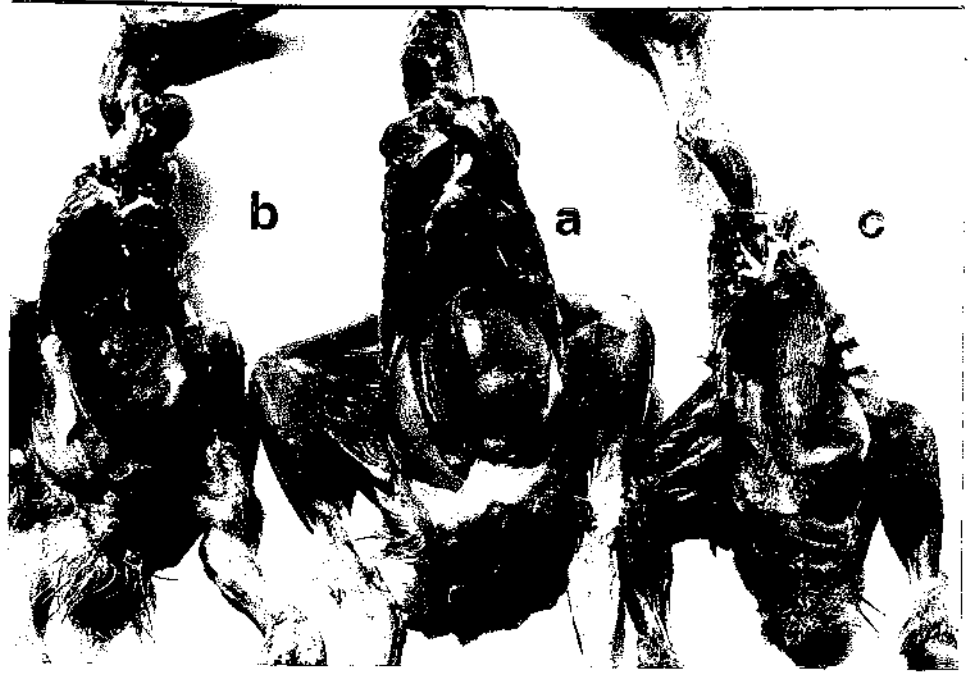
Resim-9:Kontrollere göre embriyonal gelişimin yavaşlaması veya durması ile karakterize cücelik.
a)EAB-VI grup, 27. kuluçka günü b)Kontrol



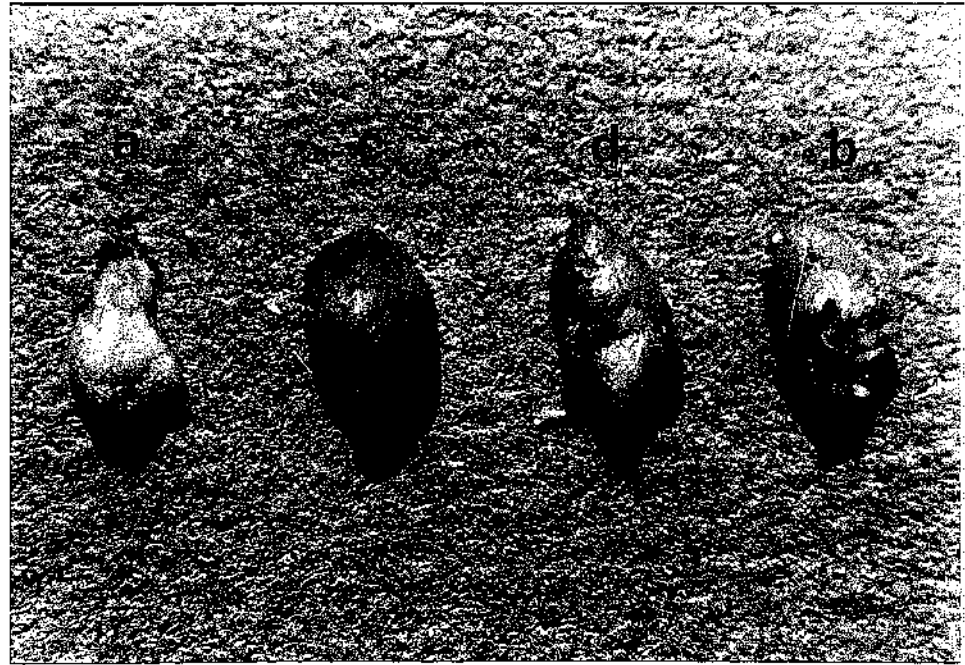
Resim-10: Enfekte palazların klinik görünüşleri.

a- Enfekte

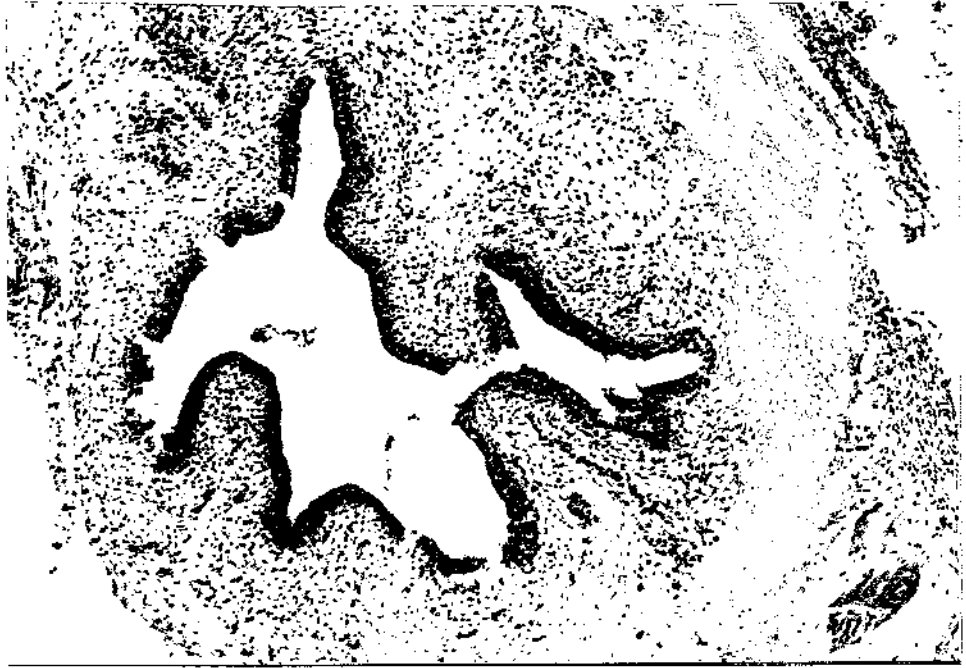
b- Kontrol.



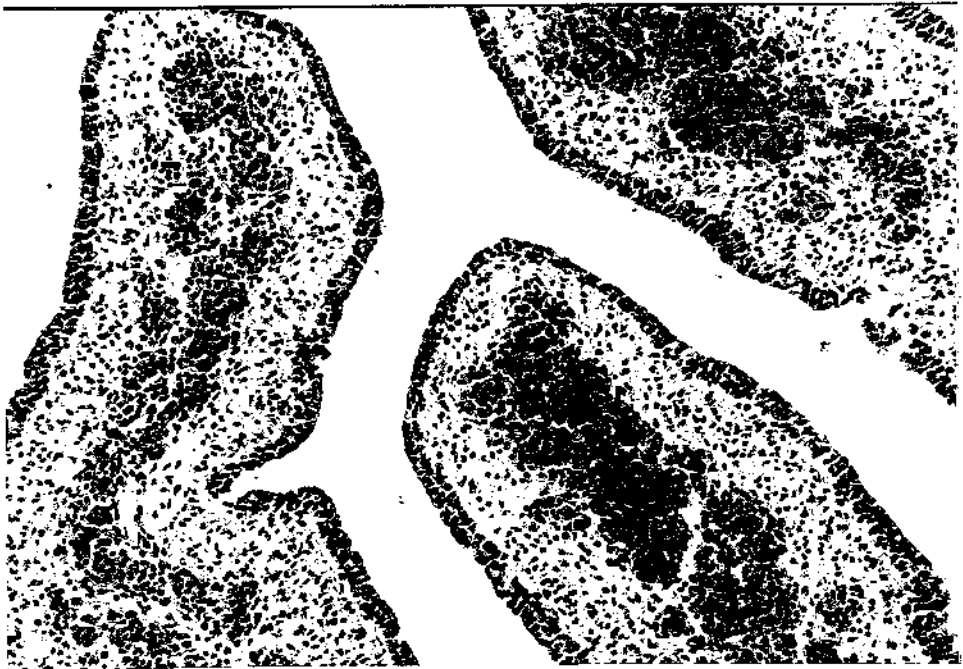
Resim-11: Enfekte palazlarda kontrole göre gelişme geriliği, karaciğerin solgun ve kasların koyu kırmızı renkteki görünüşleri. a) Kontrol b, c) Enfekte



Resim-12: Enfekte palaz BF'lerinin kontrollere göre daha küçük ve üzerlerinin pürüzlü görünümü. a,b) Enfekte c,d) Kontrol



Resim-13: BF'ta plika epitelinde yassılaşma ve yer yer dökölmesi ile mezenşimal dokuda ödem ve tek tük eritrositler , ESK-I grup-15. gün, (H.E., x132*), *: Yaklaşık Gerçek büyütme.



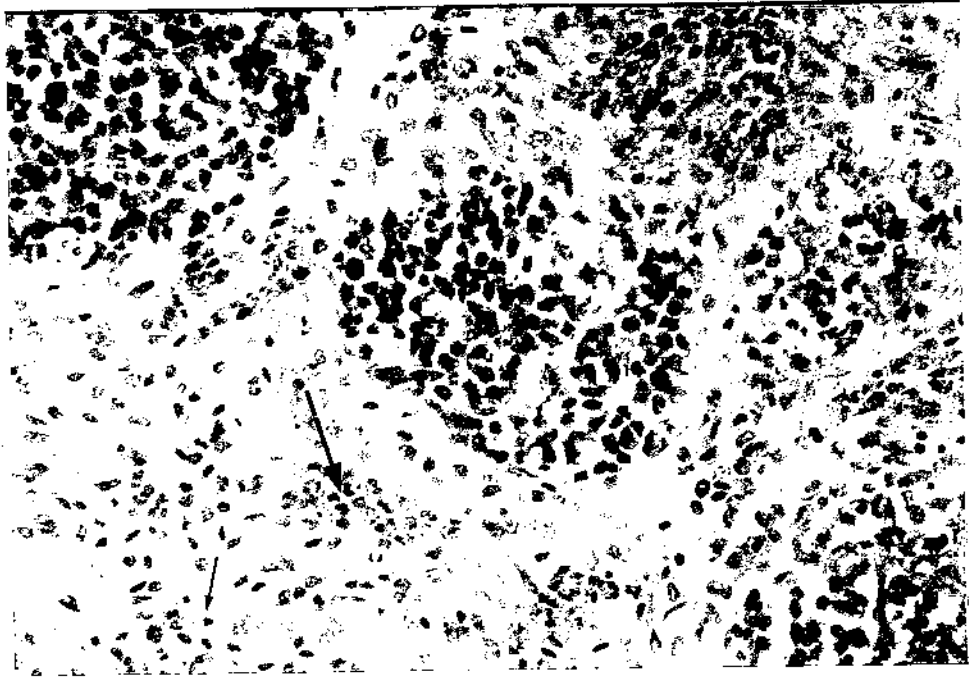
Resim-14: BF'ta pliakaların uçlarına kadar yayılan şiddetli hemoraji, ESK-III. grup-19.gün, (H.E., x200).



Resim-15: BF'ta tunika seroza ve tunika muskularis'te yaygın ödem ve kapillar damarlarda hiperemi, ESK-III. grup-20. gün, (H.E., x200).



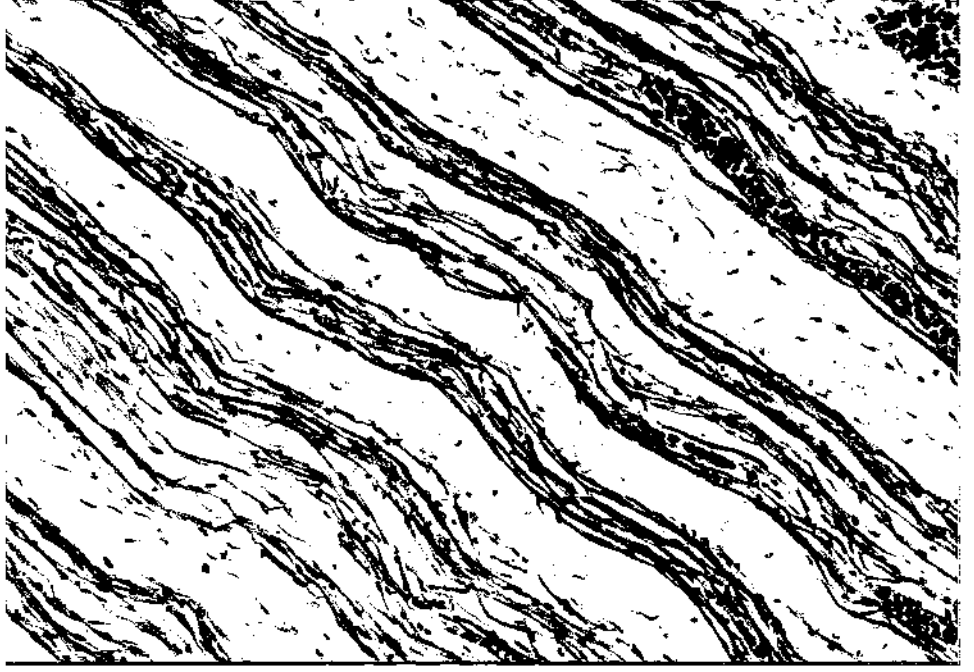
Resim-16: İnterfolliküler epitelde hiperplazi sonucu plikalarda kıvrımlar, ESK-IV. grup-22. gün, (H.E., x80).



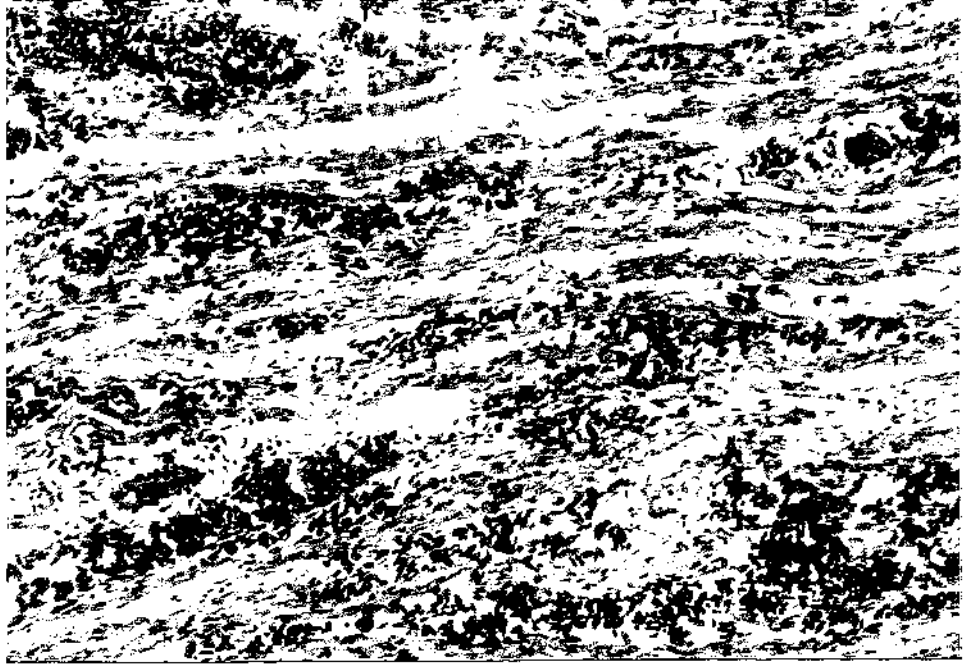
Resim-17: BF interfolliküler bağ dokusunda heterofil granülosit ve eritrositlerden oluşan hücre kümeleri, ESK-IV. grup-22.gün, (H.E., x528).



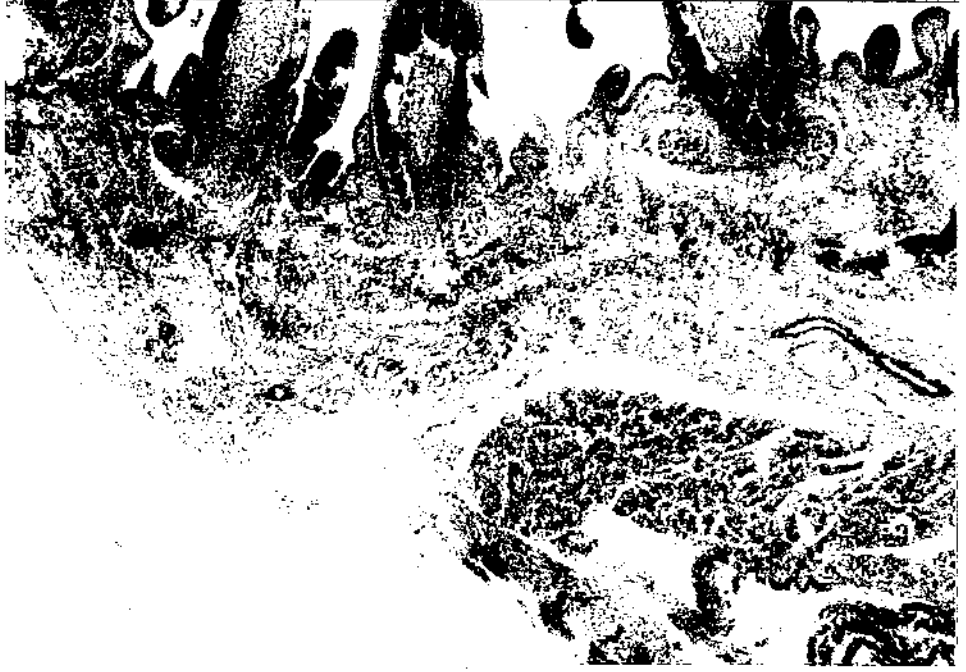
Resim-18: BF'ta bez benzeri oluşumlar (1) ile interfolliküler bağdokuda fibroplazi (2) , ESK-VII. grup-27.gün, (H.E., x200).



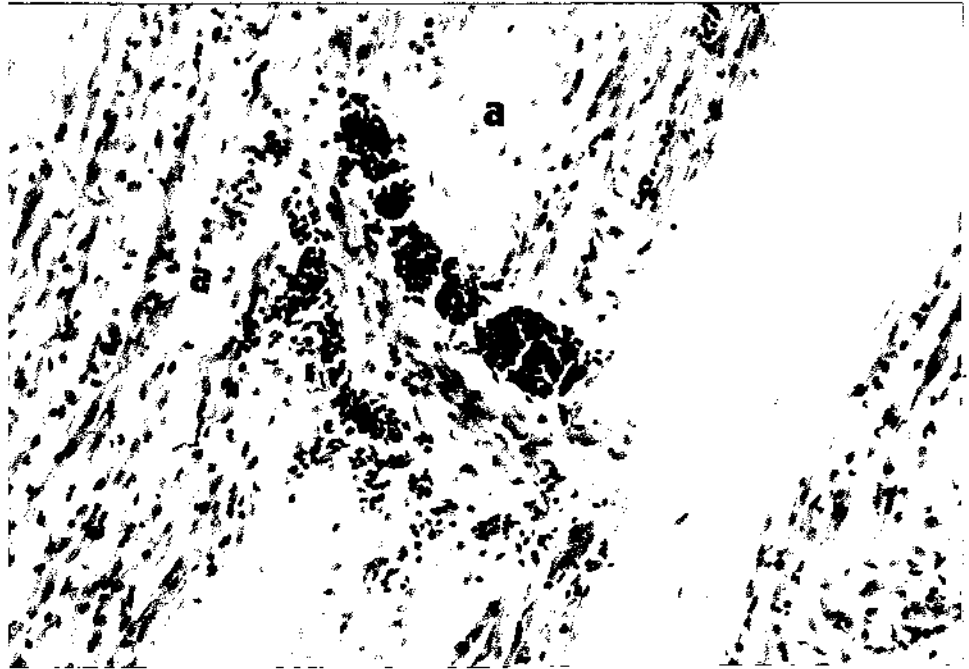
Resim-19: But bölgesi iskelet kaslarında yaygın intersellüler ödem, ESK- III. grup-19. gün, (H.E., x400).



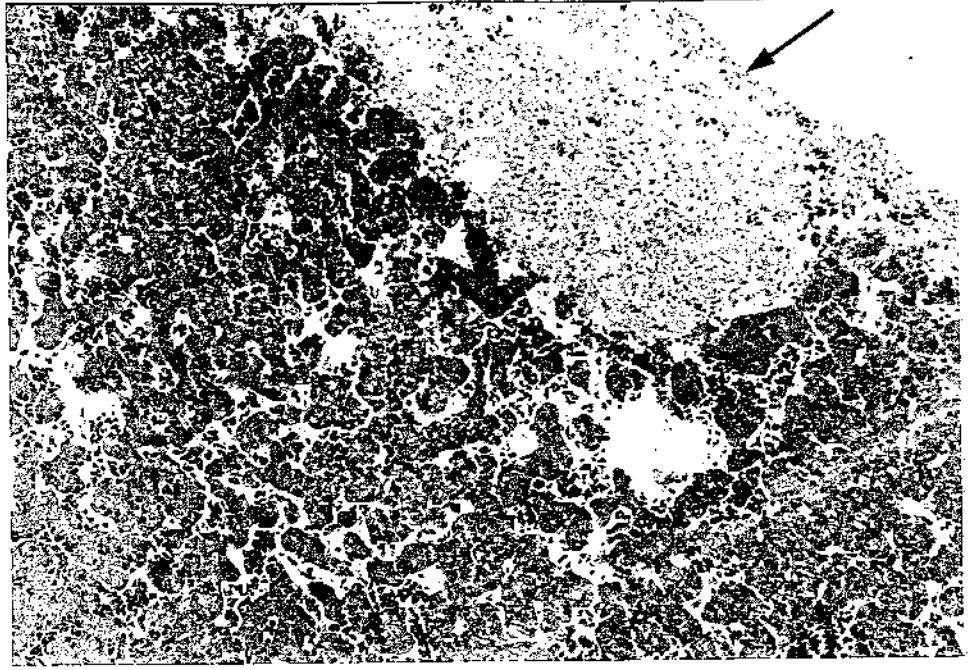
Resim-20: But bölgesi iskelet kaslarında şiddetli hemoraji, ESK-IV. grup-21. gün, (H.E., x200).



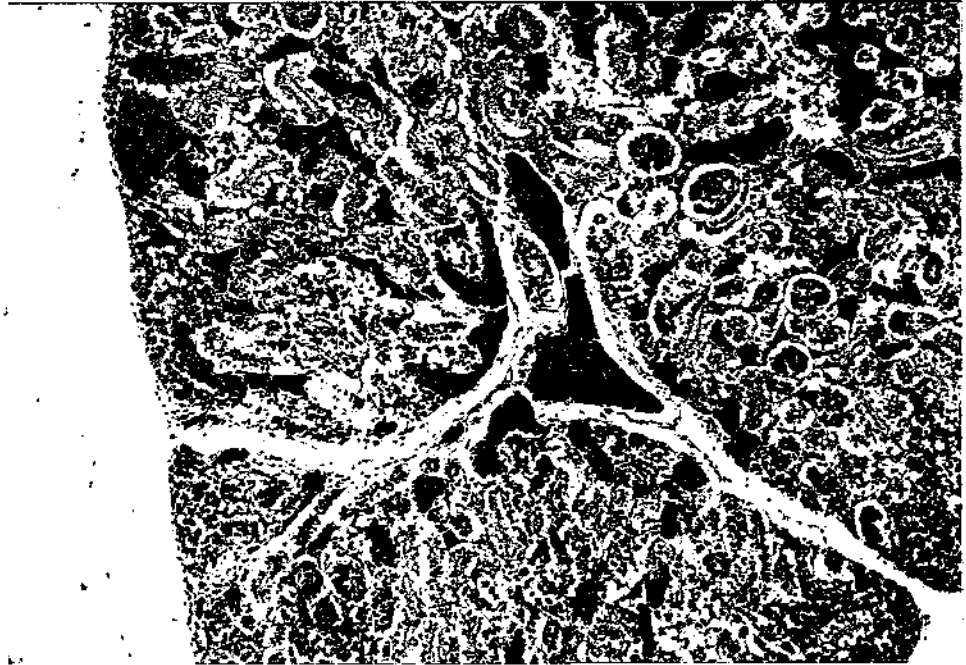
Resim-21: Derinin dermis, subkutis ve dermal kaslarında yaygın ödem ve hemoraji, ESK-III. grup-20. gün, (H.E., x80).



Resim-22: But bölgesi kaslarında nekroz (a) ve lenfosit infiltrasyonları (b) ile bir ektopik lenfoid odak (c), ESK-VI. grup-21. gün, (H.E., x400).



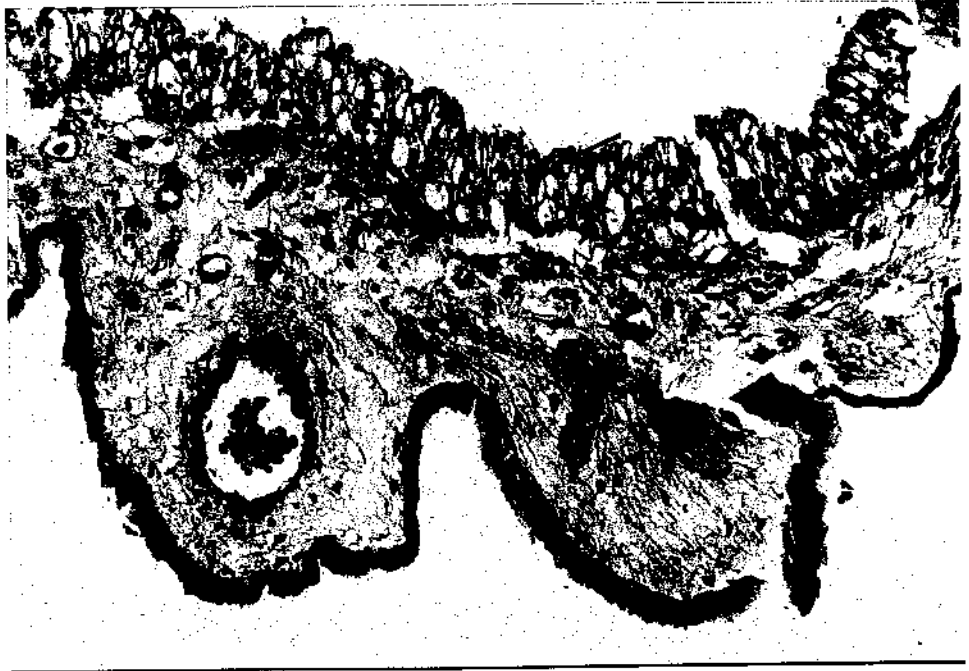
Resim-23: Karaciğerde subkapsüler koagülasyon nekrozu, ESK-II. grup 17. gün, (H. E., x132).



Resim-24: Metanefrozda şiddetli, yaygın intertubular kapillar damar hiperemileri ve hemorajilerin yanısıra proksimal tubulus ve toplayıcı kanal epitelinde dejenerasyon, nekroz ve deskuamasyon görülmekte, ESK-III. grup-19. gün, (H.E., x132).



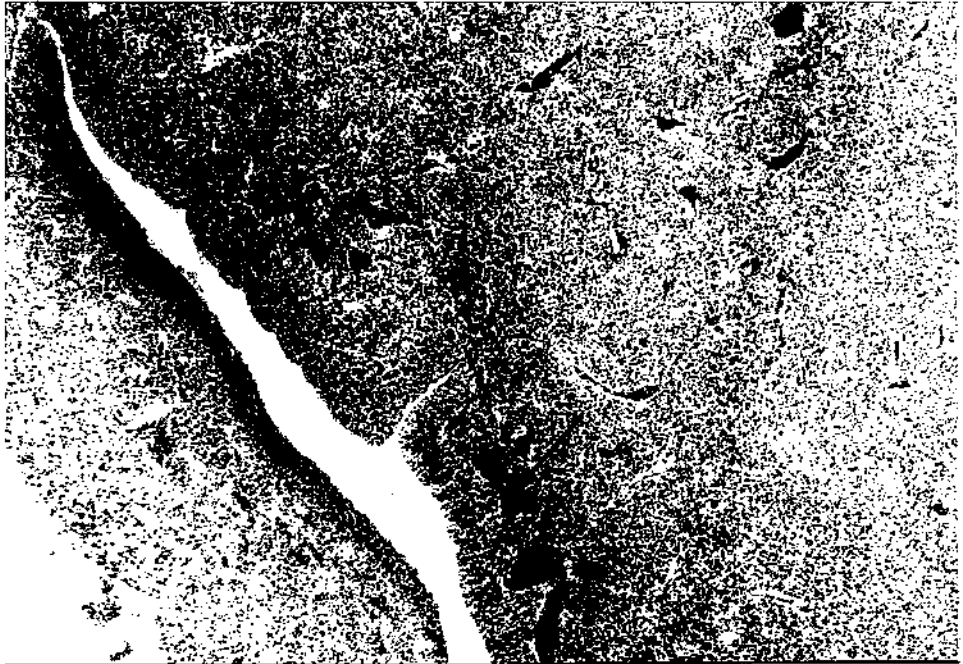
Resim-25: KAM'nın mezenşimal ve epiktoermal damarlarında hiperemi, ESK-II. grup-18. gün, (H.E., x200).



Resim-26: KAM ektodermal epitel hücrelerinde hidropik dejenerasyon, ESK-III. grup-20. gün, (H.E., x264).



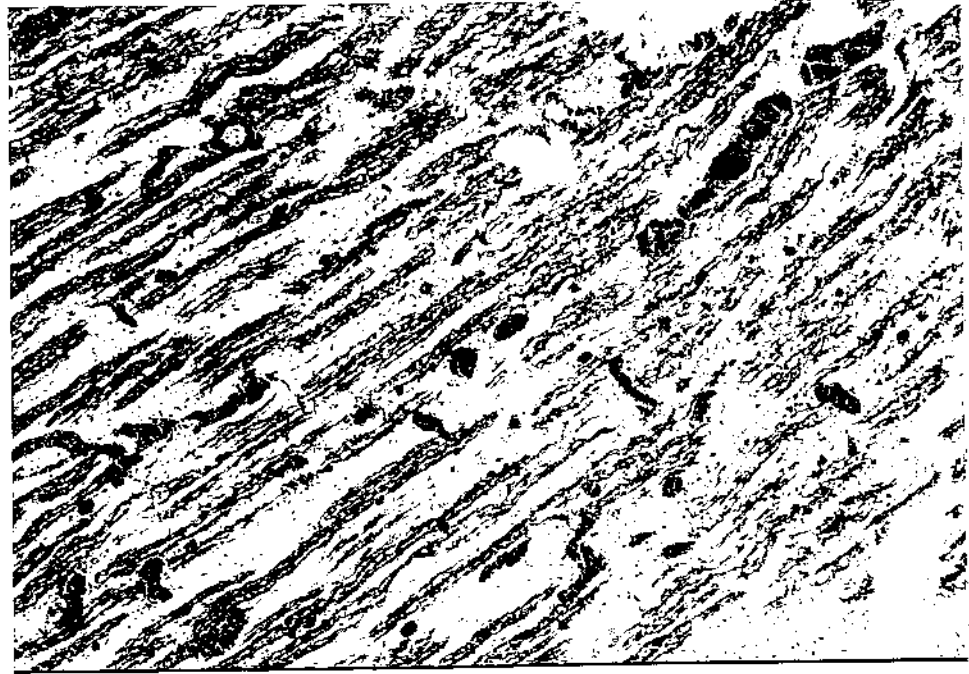
Resim-27: Kontrol grubu embriyolarda, iç allantoik membran epitel hücrelerinde hidropik dejenerasyon ve kistik oluşumlar, Kontrol - VI. grup-26. gün, (H.E., x200).



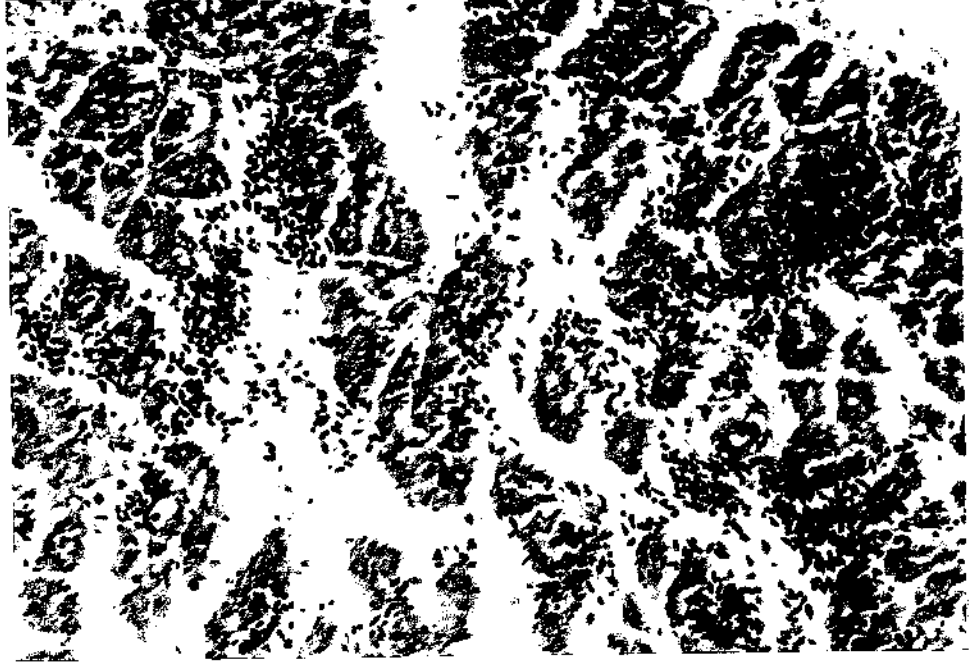
Resim-28: Beynin optik loplarında fokal hemorajik odaklar-oklar, ESK-II. grup-17. gün, (H.E., x80).



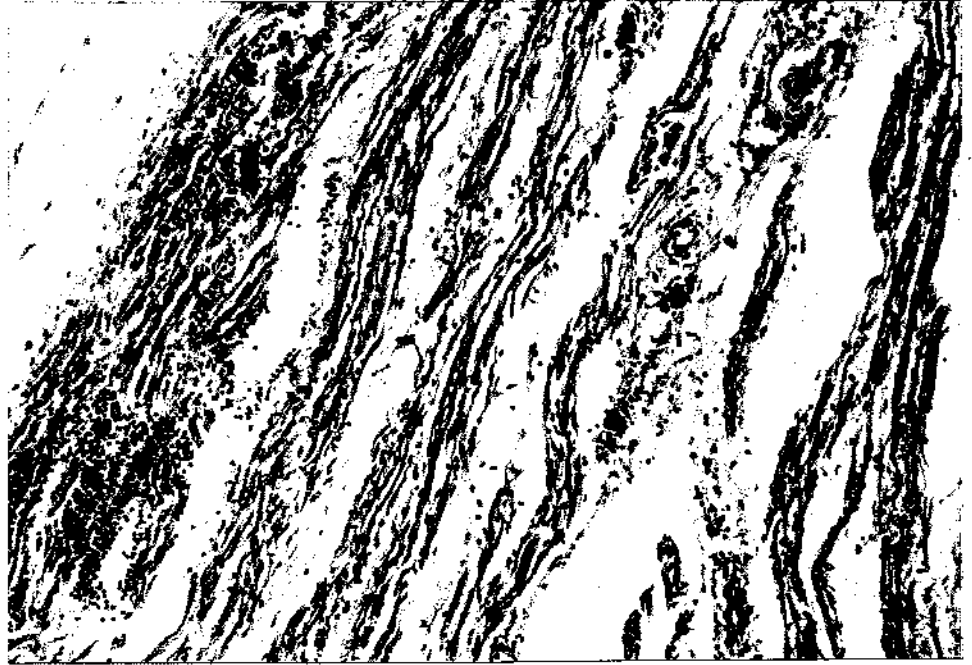
Resim-29: İnterfolliküler bağ dokuda fibroplazi ile regresyona uğramış bursal folliküller, EAB-VI grup-24. gün, (H.E., x80).



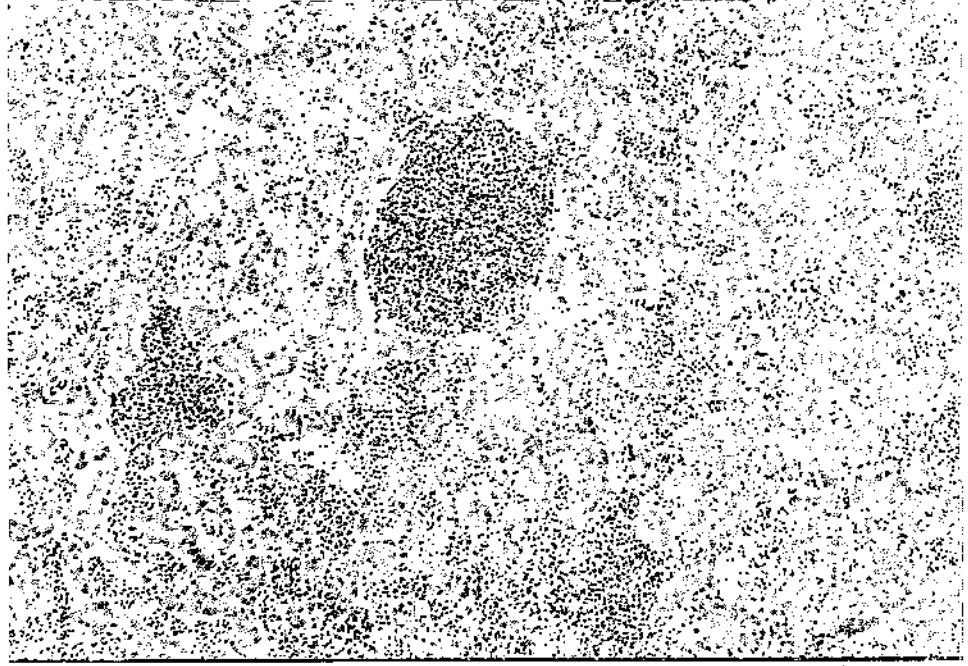
Resim-30: But bölgesi iskelet kasında şiddetli ödem, damarlarda hiperemi ve fokal hemorajik odaklar, EAB-II. grup-19. gün, (H.E., x80).



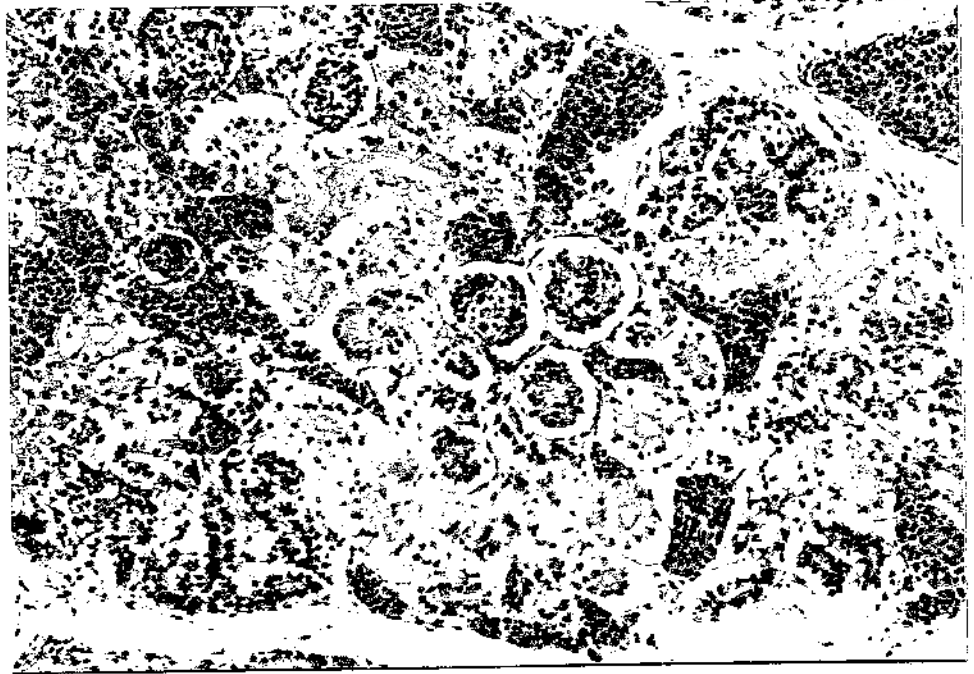
Resim-31: But bölgesi kaslarında hemoraji, EAB-III. grup-21. gün, (H.E., x200).



Resim-32: Bacak bölgesi iskelet kaslarında nekroz ve mononükleer hücre infiltrasyonları, EAB-IV. grup-24. gün, (H.E., x200).



Resim-33: Karaciğerde damarlarda hiperemi ve sinuzoidlerde genişleme, EAB-III. grup-22.gün, (H.E., x132).



Resim-34: Metanefroz kapillar damarlarında hiperemi, proksimal ve distal tubulus epitellerinde dejenerasyonu ve nekroz, EAB-IV. grup-24. gün, (H.E., x264).



Resim-35: Enfekte plazaların BF'larında rejnere (1) , glandular (2) ve regresif folliküller(3) görülmekte, (H.E., x200).

6. KAYNAKLAR

1. Abdu, P. A., Abdullahi, A. A., Adesiyun, A. A. and Ezeokoli, C. D. (1984). Infectious Bursal Disease, Faculty of Veterinary Medicine, Ahmedu Bello University Zaira, Nigeria. 219-231.
2. Ackerman, D. G. and Knouff, A. R. (1959). Lymphocytopoiesis in the Bursa of Fabricius. *Am. Jour of Anat.*, 104, (2), 165-178.
3. Baysal, M. ve Bozkır, M. (1989). Konya Bölgesi Kümes Hayvanlarında Infectious Bronchitis (IB), Infectious Laryngotracheitis, (ILT), Infectious Bursal Disease (IBD), Egg-Dropp-Syndrome 76 (EDS-76), Avian Encephalomyelitis ve Adenovirus Enfeksiyonlarının Epizotolojik Araştırılması ve İzolasyon Çalışmaları. *Etlik Vet. Mik. Derg.*, 6, 4, 67-87.
4. Cheville, N. F. (1967). Studies on the Pathogenesis of Gumboro Disease in the Bursa of Fabricius, Spleen and Thymus of the Chicken. *Am. Journal Pathology*, 51, 527-551.
5. Chin P. R., Yamamoto, R., Lin Weiging., Lam, K. M. and Farver, T. B. (1984). Serological Survey of Infectious Bursal Disease Virus Serotypes-1 and 2 in California. *Avian Dis.*, 28, 4., 1026-1036.
6. Cho, Y. and Edgar, S. A. (1970). Characterization of Infectious Bursal Disease. *Poultry Science.*, 51; 60-69.
7. Christopher, J. K. (1982). Experimental Infection of Chick Infectious Bursal Disease Virus to Developing Duck Embryos. *Acta. Vet. (Beograd).*, 32, 1, 27-30.
8. Çöven, F. Ege Bölgesinde Enfeksiyöz Bursal Hastalığı Olaylarının Araştırılması ve İzolasyon Çalışmaları., I. Ulusal Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi, Kongre Kitapçığı., 75, 27-29 Eylül 1994, Ankara.
9. Dohms, J. E., Lee, K. P. and Rosenberger, J. K. (1981). Plasma Cell Changes in the Gland of Harder Following Infectious Bursal Disease Virus Infection of the Chicken. *Avian Dis.*, 25, (3). 1981.
10. Dohms, J. E., Lee K. P., Rosenberger, J. K. and Meltz, A. L. (1988). Plasma Cell Quantitation in the Gland of Harder During Infectious Bursal Disease Virus Infection of 3-Week-Old Broiler Chickens. *Avian Dis.*, 32, 624-631.
11. Durojaiye, O. A., Ajibade, H. A. and Olafimiha, G. O. (1984). An Outbreak of Infectious Bursal Disease in 20-Week -Old Birds. *Trop. Veterinarian.*, 2, 175-176.

12. Dvenington, E. M. and Lucas, N. M. (1960) Influence of Heat Treatment on the Number of Ectopic Lymphoid Foci in Chickens. *Am. J. Vet. Res.*, 13, 734-738.
13. Fadly, M. A., Winterfield, R. W. and Olander, H. J. (1975). Role of Bursa Fabricius in the Pathogenicity of Inclusion Body Hepatitis and Infectious Bursal Disease Viruses. *Avian Dis.*, 20, (3), 467-477.
14. Fadly, A. M. and Nazerian, K. (1983). Pathogenesis of Infectious Bursal Disease in Chickens Infected with Virus at Various Ages. *Avian Dis.*, 27, (3), 714-723.
15. Faragher, J. T. (1972). Infectious Bursal Disease of Chickens. *Vet. Bull.*, 42, (6), 360-369.
16. Firth, G. A. (1972). The Normal Lymphatic System of Domestic Fowl., *Vet. Bulletin.*, 47, (3), 167-179.
17. Friederichs, V. M. and Neuman, (1983). Stages of Differentiation and Peripheralization of Lymphoid Cells of the Chicken During Fetal Life and After Hatching. *Eur. J. Immunol.*, 47, 72-82.
18. Gelb, J. Eidson, and Kleven, H. (1979). Interferon Production in Embryonating Chickens Infected with Attenuated or Pathogenic Isolate of IBDV. *Avian Dis.*, 23, (2), 534-538.
19. Gelb, J. and Eidson, C. (1980). Studies on Interferon Induction by Infectious Bursal Disease Virus (IBDV) II. Interferon Production in White Leghorn Chickens Infected with Attenuated or Pathogenic Isolate of IBDV. *Avian Dis.*, 23, (3), 634-645.
20. Gelenzei, E. F. and Lunger, D. P. (1970). Isolation of a Reovirus From Bursa of Fabricius of Chickens Affected by Infectious Bursal Disease. *J. A. V. M. A.*, 156, 9, 1270-1274.
21. Glick, B. (1971). Morphological Changes and Humoral Immunity in Cyclophosphamide-Treated Chicks., *Trans.*, 11, 5, 433-439.
22. Glick, B. (1977). The Bursa of Fabricius and Immunoglobulin Synthesis. *Int. Rev. Cytol.*, 48, 345-402.
23. Glick, B. (1988). Bursa of Fabricius: Development, Growth, Modulation and Endocrine Function. *CRC Crital Reviews in Poultry Biology.*, 1, 2, 107-132.
24. Gülcü, H. B. ve Kandil, M. I. Ulusal Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi, Kongre Kitapçığı., 76, 27-29 Eylül 1994, Ankara.

25. Hazıroğlu, R. Maeda, M., Nakamura, K., Haritani, M. and Narita, M. (1988),
Diagnosis of Infectious Bursal Disease (IBD) by Immunofluorescence. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 35, (2-3), 289-298.
26. Helmboldt, C. F. and Garner, E. (1964). Experimentally Induced Gumboro Disease. *Avian Dis.*, 8, 4, 561-578.
27. Henry, W., Brewer, N. R. and Edgar, A. (1979). Studies on Infectious Bursal Disease in Chickens 2. Scoring Microscopic Lesions in the Bursa Fabricius, Thymus, Spleen and Kidney in Gnotobiotic and Battery Reared White Leghorns Experimentally Infected with Infectious Bursal Disease Virus. *Poult. Sci.*, 59, 1006-1017.
28. Hirai, K., Shimakurai, E., Kawamoto, E., Taguchi, F., Kim, S. T. and Chang C. N. (1974). The Immunodepressive Effect of Infectious Bursal Disease in Chickens. *Avian Dis.*, 18, (1), 50-57.
29. Hirai, K. and Calnek B. W. (1979). In Vitro Replication of Infectious Bursal Disease Virus in Established Lymphoid Cell Lines and Chicken B Lymphocytes. *Avian Dis.*, 25, (3), 964-970.
30. Hirai, K., Kunihiro, K., Shimakura, S. (1980). Characterization of Immunosuppression in Chickens by Infectious Bursal Disease Virus. *Avian Dis.*, 24, 4, 950-965.
31. Hirai, K., Funakoshi, K., Shimakura, S. (1981). Sequential Changes in the Number of Surface Immunoglobulin-bearing B. Lymphocytes in Infectious Bursal Disease Virus-Infected Chickens. *Jpn. J. Vet. Res.*, 25, 2, 484-496.
32. Hudson, L., Pattison, M. and Thantrey, N. (1975). Specific B Lymphocyte Suppression by Infectious Bursal Disease in Chickens. *Aus J. Immunol.*, 5, 765-769.
33. Inoue, M., Fukuda, M. and Miyano, K. (1994). Thymic Lesions in Chicken Infected with Infectious Bursal Disease Virus. *Avian Dis.*, 38, 839-846.
34. Ismail, N.M., Fadly, A. M. and Chang, T. S. (1987). Effect of Bursal Cell Number on the Pathogenesis of Infectious Bursal Disease in Chickens. *Avian Dis.*, 31, 546-555.
35. Ivanyi, J. and Morris, R. (1976). Immunodeficiency in the Chicken. An Immunological Study of Infectious Bursal Disease. *Clin Exp. Immunol.*, 23, 154-165.

36. Kandil, M. ve Metin, N. (1982). Enfeksiyöz Bursitis Virusu ile Enfekte Edilmiş Tavuk Embriyosunda Makroskopik Bulgular ve Embriyonal Bursa Fabiricii'de Histopatolojik Değişimler. F. Ü. Vet. Fak. Derg., (7), 1-7.
37. Kandil, M. (1989). Hindilerde Enfeksiyöz Bursal Hastalık Virusu ve Celo Virus Enfeksiyonları, F. Ü. Vet Fak. Derg., 3, 27-33.
38. Kandil, M. ve Metin, N. (1981). Immunodifzyon ve Embriyo Duyarlılık Yöntemleri Yardımı ile Tavuklarda Enfeksiyöz Bursitis'in Yayılımı Üzerine Araştırmalar. F. Ü. Vet. Fak. Derg., (6), 1-2.
39. Karadaş, E. (1994). Enfeksiyöz Bursal Hastalık Virusu ile Enfekte Edilmiş Pekin Ördeği Embriyolarında Oluşan Makroskopik ve Mikroskopik Değişimler., Türk Veteriner ve Hayvancılık Dergisi., 18, 339-345.
40. Kaufer, I. and Weiss, E. (1980). Significance of Bursa of Fabricius as a Target Organ in Infectious Bursal Disease of Chickens. Infection and Immunity., 27, (2), 364-367.
41. Komárek, V., Malinovský and Lemez, L. (1986). Anatomia Avium Domesticarum et Embryologia Galli. Priorodavdydavetstuo Knih Acasopisov, Bratislava., Chekostovakia.
42. Ley, K. D. H., Yamamoto, R. and Bickford, A. A. (1979). Immune Complex Involvement in the Pathogenesis of IBDV in Chickens. Avian Dis., 23, 219-224.
43. Ley, K. D. H., Yamamoto, R. and Bickford, A. A. (1984). The Pathogenesis of Infectious Bursal Disease. Serologic, Histopathologic and Clinical Observations. Avian Dis., 27, (4), 1060-1085.
44. Leyk, W. (1971). Macro und Mikroskopische Veränderungen des Hühnerembryos nach experimenteller Infektion dem Erreger der Infektlösen Bursitis der Junghennen (Bumbaru-Krankheit).
45. Long, P. L. (1974). Chicken Embryos for the Cultivation of Pathogenic Protozoa. Folia Vet. Lat., 4, 289-230.
46. Luna, L. G. (1970). Manuel of Histologic Staining Methods of The Armed Forces Institute of Pathology. McGraw. Hill Book Company. New York. USA.
47. Mackenzie, M. and Spradbrow, P. B. (1981). Persistence of Infectious Bursal Disease Virus in Experimentally Infected Chickens. Australian Veterinary Journal., 57, 534-535.

48. Mandelli, G. and Valeri, A. (1972). Ultramicroscopic Findings of the Bursa of Fabricius in Gumboro Disease. *Folia Vet. Lat.*, 4, 785-821.
49. Mandelli, G., Lodetti, E., Rinaldi, A. and Cervio, G. (1972). Cultural, Cytologic and Ultramicroscopic Characteristics of An IBA Strain. *Folia. Vet. Lat.*, 2, 339-425.
50. McFerran, J. B., McNulty, M. S., McKillop, E. R., Conner, T. J., McCracken, R. M., Collins, D. S. and Allan, G. M. (1980). Isolation and Serological Studies with Infectious Bursal Disease Viruses From Fowl, Turkeys and Ducks: Demonstration of a Second Serotyp. *Avian Path.*, 9, 395-404.
51. McIlory, S. G., Goodal, E. A. and McCracken, R. M. (1989). Economic Effects of Subclinical Infectious Bursal Disease on Broiler Production. *Avian Path.* 18, 465-480.
52. McIlory, S. G., Goodal, E. A. Bruce D. W., McCracken, R. M. and McNulty, M. S. (1992). The Cost Benefit of Vaccinating Broiler Flocks Against Subclinical Infectious Bursal Disease. *Avian Path.*, 21, 65-76.
53. McNulty, M. S., Allan, G. M. and McFerran, J. B. (1979). Isolation of Infectious Bursal Disease Virus From Turkeys. *Avian Path.*, 8, 205-212.
54. Müller, R., Kaufer, I.y, Reinacher, M. and Weiss, E. (1979). Immuno-fluorescent Studies of Early Virus Propagation After Oral Infection with Infectious Bursal Disease Virus. *Zentbl. Vet. Med.*, 26B, 345-351.
55. Naqi, S. A. and Millar, B. S. (1978). Morphologic Changes in the Bursa of Fabricius of Chickens After Inoculation with IBDV. *Am. J. Vet. Res.*, 112, (187), 1134-1139.
56. Naqi, S. A., Adams, L. G., Panigray, B. and Vivek, A. R. (1978). Experimental Induction of Hemorrhagic-aplastic. Anemie in Chickens. *Avian Dis.*, 22, (4), 674-682.
57. Naqi, S. A. , Millar, D. L. and Grumles, L. C. (1980). An Evaluation of Three Commercially Available Infectious Bursal Disease Vaccines. *Avian Dis.*, 24, (1), 233-240.
58. Nakai, T. and Hirai, K. (1981). In Vitro Infection of Fractionated Chicken Lymphocytes by Infectious Bursal Disease Virus. *Avian Dis.*, 25, (4), 831-838.

59. Nakai, T. and Hirai, K. (1984). In Vitro Infection of Bursectomized Chicken B Lymphocytes to Infectious Bursal Disease Virus. *Avian Dis.*, 49, (12), 239-245.
60. Naukkarinen, A. and Sorvari, E. T. (1984). Involution of the Chicken Bursa of Fabricius: A. Light Microscopic Study with Special Reference to Transport of Colloidal Carbon in the Involuting Bursa. *J. Leu. Biology.*, 35, 281-290.
61. Niedorf, H. R. and Wolters, Y. (1978). Development of the Harderian Gland in the Chicken; Light and Electron Microscopic Investigations. *Inverst. Cell. Pathol.*, 1, 205-211.
62. Okoye, J. O. A. (1975). An Outbreak of Infectious Bursal Disease of Chickens in Nigera. *Vet. Rec.*, 97-433.
63. Okoye, J. O. A. (1983). The Effect of Late Infectious Bursal Disease on the Severity of Naturally Occuring *Eimeria Necatrix* Infection in Chickens. *Bull. Anim. Hlth. Prod. Afr.*, 31, 263-267.
64. Okoye, J. O. A. and Phil, M. (1984). Infectious Bursal Disease of Chickens. *Vet. Bulletin.*, 54, (3), 425-435.
65. Okoye, J. O. A. Uzoukwu, M. (1984). Histopathogenesis of Infectious Bursal Disease in the Bursa of Fabricius. *Trop. Veterinarian.*, 2, 91-96.
66. Okoye, J. O. A. (1985). Histopathology of Infectious Bursal Disease in Non-Lymphoid Organs of Chickens. *Rev. Elev. Med. Vet. Pays. Trop.*, 40, (1), 13-16.
67. Okoye, J. O. A. (1987). The Pathology of Infectious Bursal Disease in Indigenous Nigerian Chickens. *Rev. Elev. Med. Vet. Pays. Trop.*, 40, (1), 13-16.
68. Okoye, J. O. A. Iguomu, E. P. and Nwosuh, C. (1990). Pathogenicity of an Isolate of Infectious Bursal Disease Virus in Guinea Fowls. *Acta. Vet. Brno.*, 58, 91-96.
69. Okoye, J. O. A. Iguomu, E. P. and Nwosuh, C. (1990). Pathogenecity of an Isolate of Infecitous Bursal Disease Virus in Local Nigerian Ducks. *Acta Vet. Brno.*, 22, 160-162.
70. Okoye, J. O. A. and Uzoukwu, M. (1990). Pathogenesis of Infecitous Bursal Disease in Embriyonally Bursectomised Chickens. *Avian Path.*, 19, 555-569.

71. Okoye, J. O. A., Okeke, C. N. and Ezeoble, K. (1991). Effect of Infectious Bursal Disease Virus Infection on the Severity of *Aspergillus flavus* Aspergillosis of Chickens. *Elev. Med. Vet. Pays. Trop.*, 20, 167-171.
72. Olah, I. and Glick, B. (1978). The number and Size of the Follicular Epithelium and Follicles in the Bursa of Fabricius. *Poultry Sci.*, 57, 1445-1450.
73. Olah, I., Glick, B. and Törö, I. (1991). Bursal Development in Normal and Testosterone-Treated Chick Embryos. *Poultry Sci.*, 65, 574-588.
74. Onunkwo, O. and Okoye, J. O. A. (1991). First Report of an Infectious Bursal Disease Outbreak in a Vaccinated Chicken Flock in Anambra State. Nigeria. *Revue. Elev. Med. Vet. Pays. Trop.*, 44, (4), 411-414.
75. Panisup, A. S., Verma, K. C. and Mohanty, G. C. (1984). Age Resistance in Chickens Against Infectious Bursal Disease. *Acta. Vet. Scand.*, 25, 561-566.
76. Parkhurst, R. T. (1964). On the Farm Studies of Gumboro Disease in Broilers. *Avian Dis.*, 12, 584-596.
77. Pink, J. R. L. (1976). Counting Components of the Chickens B Cell System *Immunol. Reviews.*, 91, 115-128.
78. Proudfoot, F. G. (1974). The Effect of Diet on the Severity of Losses From Infectious Bursal Disease in a Commercial Broiler Genotyp. *Poultry Sci.*, 54, 294-296.
79. Rampin, T., Castelli, G. and Mandelli, G. (1975). Reperti Istologici Della Borsa the Fabrizio Della Malattia Di Gumboro. Estratto da La Clinica Veterinaria., 98, (21), 495-500.
80. Rao, S. U. M., Sambramurti, B. and Mallick, B. B. (1980). Dwarfing and Mortality of Chicken Embryos Caused by Indigenous Isolates of Infectious Bursal Disease. *Indian J. Anim. Hlth.*, 12, 111-114.
81. Ratcliffe, M. J. H. (1985). The Ontogeny and Cloning of B Cells in the Bursa of Fabricius. *Immunology Today.*, 6, (7), 223-227.
82. Ratcliffe, M. J. H., Lassila O., Reynols, J. Richard, J. L. and Vainio, O. (1987). A. Re-evaluation of the Function of the Bursa of Fabricius. *Avian Immunology.*, 3-14, Alan. R. Liss, Inc. USA.
83. Reynaud, C. A. Hein, W. R. and Weill, J. C. (1992). Diversity is Generated with Diversity? *Eur. J. Immunol.*, 21, 121-128.

84. Riddel, C.(1987). Avian Histopathology. First Edition. American Association of Avian Pathologist,Inc. Allen Press Inc., Lawrence, Kansas; USA.
85. Romanoff, A. (1960). The Avian Embryo, Structure and Functional Development. First Edition., 459-530, Macmillan Company, New York. USA.
86. Rosales, A. G., Villegas, P., Lukert, D., Flentcher, O. J., Mohammed, M. A. and Brown, J. (1989). Immunosuppressive Potential and Pathogenecity of a Recent Isolate of Infectious Bursal Disease Virus in Commercial Broiler Chickens. Avian Dis., 33, 724-728.
87. Rosenberger, J. K., Klopp, S., Eckrade, J. R. and Krauss, H. (1976). The Role of Bursal Agent and Severity of Avian Adenoviruses in the Hemorrhagic Aplastic Anemie Syndrome and Gangreneous Dermatitis. Avian Dis., 19, (4), 717-729.
88. Schad, K. A., Luci, B. and Carlisle, J. C. (1981). Pathogenesis of Infectious Bursal Disease in Embryonally Bursectomised Chickens. Avian Dis., 25., (4), 996-1004.
89. Sharma, J. M. (1986). Embryo Vaccination of Specific-Pathogen-Free Chickens with. Infectious Bursal Disease: Tissue Distribution of the Vaccine Virus and Protection of Hatched Chickens Against Disease. Avian Dis., 30, (4), 776-780.
90. Sharma, J. M. (1989). Comparative Pathogenesis of Serotyp 1 and Variant Serotyp 1 Isolates of Infectious Bursal Disease Virus and Their Effect on Humoral and Cellular Immune Compotence of Specific Pathogen Free Chickens. Avian Dis., 33, 112-124.
91. Sharma, J. M. Dupuy, J. M. and Lamontagine (1989). Immunosupression by Avian Infectious Bursal Disease Virus and Mouse Hepatitis. Virus. 201-206. Steven Specter, Mouro Bendienelli and Herman Friedman, Plenum Publishing Corporation. USA.
92. Sharma, J. M., Dohms, J., Walser M. and Synder, D. B. (1993). Presence of Lesions Without Virus Replication in the Thymus of Chickens Exposed to Infectious Bursal Disease Virus. Avian Dis., 37, 741-748.
93. Sivanendan, V., Limcumpao, J. A., Benson, H. J. and Newman, J. A. (1984). Serologic Evidence of Infectious Bursal Disease Virus Serotype 2 Infection in Minnesota Turkey. Avian Dis., 28, (3), 765-769.

94. Sivanendan, V., Sasipreeyajan, J., Halvarson, A. D. and Newman, A. J. (1986). Histopathologic Changes Induced by Serotype 2 Infectious Bursal Disease Virus in Specific-Pathogen Free Chickens. *Avian Dis.*, 30, (4), 709-715.
95. Skeels, J. K., Lukert, P. D., Buyscher, V., Fletcher, O. J. and Brown, J. (1979). Infectious Bursal Disease Virus Infections. II. The Relationship of Age, Complement Levels, Virus Neutralizing Antibody, Clotting, and Lesions. *Avian Dis.*, 23, (1), 107-117.
96. Snedecor, G. W. and Cochran W. G. (1980). *Statistical Methods* (7th Edition) Iowa State University Press, Ames, Iowa, U. S. A.
97. Snedeker, C., Wills, F. K. and Moulthrop, I. M. (1966). Some Studies with Infectious Bursal Agent. *Avian Dis.*, 11, 518-528.
98. Sorvari, T., Sorvari, R., Routsalainen, P., Toivanen, A. and Paavo, T. (1975). Uptake of Environmental Antigens by the Bursa of Fabricius. *Nature.*, 253, 217-219.
99. Sugimura, M., Hashimoto, Y. and Yamada, J. (1975). Morphology of Bursa Fabricius in Bursectomised and Thymectomized Ducks. *Jpn. J. Vet. Res.*, 23, (17), 24-28.
100. Takese, K., Kamikawa, S. and Yamada, S. (1980). Booster Effect of Revaccination Against Newcastle Disease on Chickens Infected with Infectious Bursal Disease. *Virus. Jpn. J. Vet. Sci.*, 42, (5), 599-601.
101. Takese, K. (1981). Horizontal Transmission of Infectious Bursal Disease Virus. *Journal of Vet. Med. Ass.*, 34, (6), 272-275.
102. Takese, K., Nonaka, F., Fukuda, T. and Shinji, Y. (1982). Recovery of Virus From Feces and Tissues of Chickens Infected with Cell-Culture-Adapted Infectious Bursal Disease Virus. *Jpn. Vet. Sci.*, 44, 207-211.
103. Timoney, J. F., Gillespie, J. H., Scot, W. F. and Barbugh, J. E. (1982). Hagan and Brunner's Microbiology and Infectious Diseases of Domestic Animals. 8. Edition, Comstock & Publishing Associate, A. Division of Cornell University Press.
104. Tizard, I. (1982). The Immune Response of Birds. *Develop. Biol. Standard.*, 51, 3-10.
105. Top, R. C. and Carlson, H. C. (1972). Studies on Avian Heterophils. III. Phagocytic Properties. *Avian Dis.*, 16, 374-380.

106. Veromaa, T. (1988). Function of Bursa Fabricius. University of Turku Press. Finland.
107. Vindevogel, H., Gouffaux, M. Meulemans, G., Halen, P., Schyns, P. (1974). Maladie de Gumboro II. Inoculation Experimentale: Etude Clinique et Anatomo-Pathologique. Ann. Med. Vet., 118, 375-386.
108. Vindevogel, H. (1979). Resistance du Pigeon au Virus de la Maladie de Gumboro. Ann. Med. Vet., 285-286.
109. Walker, K. Z., Schoefl, I. and Letferty, K. J. (1972). The Pathogenesis of The Graft - Versus. Host Reaction in Chicken Embryos. Pathological Changes in The Yolk Sac, Thymus, Bone Marrow and Bursa of Fabricius. AJABAK., 50, (6), 675-688.
110. Weisman, J. and Hitchner, S. B. (1978). Infectious Bursal Disease Virus Infection Attempts in Turkeys and Coturnix Quail. Avian Dis., 22, (4), 604-609.
111. Winterfield, R. W., Fadly, A. M. and Bickford, A. (1972). Infectivity and Distribution of Infectious Bursal Disease Virus in the Chicken. Persistence of the Virus and Lesions. Avian Dis., 16, 622-632.
112. Wilcox, G. E. (1983). Serologic Survey of Wild Birds in Australia for Prevalence of Antibodies to EDS-76 and IBDV. Avian Path., 12, (12), 136-139.
113. Yamada, S. Matsuo, K. and Uchinuno, Y. (1982). Susceptibility of Ducks and Duck-Origin Cell Cultures to Infectious Bursal Disease. Jpn. J. Vet. Sci., 26, (3), 596-601.

7. ÖZET

Bu çalışma Türkiye'de tavuklardan izole edilmiş İnfeksiyöz Bursal Hastalık Virusu (IBDV) izolatının kaz embriyolarına inokülasyonu ile oluşan morfolojik değişimlerin ortaya konulması amacıyla yapıldı. İnfektivitesi $ELD_{50}10^{-3}/0.2$ ml olan virusun yirmiyedinci tavuk embriyosu pasajı inokülasyon materyali olarak kullanıldı. İnokülasyonlar onikinci kuluçka gününde sarıkeseye (Grup ESK) ve ondördüncü kuluçka gününde allantoik boşluğa olmak üzere farklı gün ve yollardan yapıldı. Böylece kontroller ile birlikte iki farklı enfekte grubundan oluşan üç temel grupta araştırma yürütüldü. Enfekte gruplarda inokülasyon sonrası ilk kırksekiz saat içerisinde şekillenen ölümler spesifik olmayan etkilere bağlanarak değerlendirmelerin dışında tutuldu. Daha sonraki kuluçka günlerinde özellikle ölmüş enfekte embriyolar ile birlikte kontrol grubu embriyolarda kuluçka makinasından çıkarıldı. Alınan kontrol ve enfekte embriyolarda (Grup-ESK ve Grup-EAB) vücut ve bursa Fabricius (BF) ağırlıkları ile but uzunluk ve genişlikleri saptandı. Denemeler dört kez tekrarlandıktan sonra ölçüm ve tartımlara ilişkin değerlerin enfekte ve kontrol gruplarındaki ayrı ayrı aritmetik ortalama ve standart sapmaları hesaplandı. Enfekte ve kontrol grupları arasındaki farklılıkların önem kontrolleri ise t testi yardımıyla yapıldı. Uygulanan sistemik nekropsilerden sonra BF, timus, dalak, Harder bezi, karaciğer, metanefrozlar, mezonefrozlar, iskelet kasları, korioallantoik membran (KAM) ve diğer organlardan alınan doku örneklerinden hazırlanan kesitler hematoxylin-eosin (H&E) ile gerekli hallerde de diğer boyama metotlarıyla boyandıktan sonra ışık mikroskobunda incelendi. Aşağıdaki sonuçlar elde edildi.

1) Sarıkeseye yapılan inokülasyonların allantois boşluğuna göre daha fazla oranda embriyonal ölüme öncülük ettiği saptandı. İnokülasyon sonrası ölümler heriki grupta en çok 3-10. günlerde şekillenirken, sarıkeseye inokülasyon yapılan embriyolarda bu sürede incelenen embriyoların % 36.78'i allantois boşluğuna inokülasyon yapılan embriyoların ise % 21.82'si öldü. Gruplar arasındaki bu farklılık inokülasyon günü ve/veya inokülasyon yolunun farklılığı ile açıklanabilir. Ancak heriki mortalite oranı da diğer kanatlı türlerinde yapılan çalışmalara göre daha düşük olarak bulundu.

2) Embriyo ağırlığı ve but genişliğine ilişkin değerler Grup-ESK'de postinokülasyonun 3-8. günleri arasında, Grup-EAB'de ise postinokülasyonun 3-6. günlerinde kontrollere ilişkin ortalamaların çoğu kez anlamlı olarak üzerinde bulundu. Kontrol ve enfekte grupları arasındaki bu farklılıklar birçok vücut bölgesi ile, özellikle de karın ve but bölgelerinde gözlemlenen ödem ve hemorajilerin bir sonucu olarak değerlendirildi. But uzunluklarına ilişkin

ortalama değerlerin tüm kuluçka süresince, but genişliği ve embriyo ağırlığına ilişkin ortalama değerlerin ise yukarıda anılan postinokülasyon günlerini takiben kontrollerin altında seyretmesi, **IBDV**'nin kaz embriyolarında da büyümenin durması veya yavaşlaması ile karakterize bir cücelik oluşumuna öncülük ettiğini göstermektedir. **BF** ağırlıkları inokülasyonun 3-8. günleri arasında ESK ve EAB gruplarında kontrollerin üzerinde, sekizinci inokülasyon gününden itibaren ise kontrol değerlerinin altında saptandı.

3) Gerek sarıkeye ve gerekse allantoik boşluğa yapılan inokülasyonlar benzer morfolojik lezyonlara öncülük etmiş olmakla birlikte, sarıkeseye yapılan inokülasyonlarda şekillenen lezyonların daha şiddetli olduğu saptandı. İnokülasyon sonrası üçüncü günde karın altı bölgesi ve **BF**'un çevresindeki dokularda gözlemlenen ödemlerin daha sonra baş, boyun ve bacak bölgelerinin deri, derialtı ve iskelet kaslarına doğru yayıldığı gözlemlendi. Postikonokülasyonun beşinci gününden başlayarak anılan vücut bölgeleri ile **BF**'ta ödem ile birlikte hemorajilerin de varlığı dikkati çekti. Ödemlerin şiddeti azaldıkça hemorajilerin genellikle artma eğiliminde olduğu saptandı. Ayrıca metanefrozlar, dalak ve bağırsak serozalarında iğne ucu büyüklüğünde ve serpiştirilmiş tarzda fokal ya da diffuz hemorajik odaklar mevcut idi. İnokülasyon sonrası yaklaşık 3-9. günlerde karaciğer şişkin ve kenarları kütleleşmiş olup, hem paryetal ve hem de visseral yüzlerinde kapsulada sınırlı, gri-beyaz renkte çizgilenmeler ile karakterize mozaik ya da mermer manzarası bir görünüm kazandığı saptandı. Anılan postinokülasyon günlerinde karaciğerin bu görünümü sarıkeseye inokülasyon yapılmış embriyolarda allantoik boşluğa inokülasyon yapılanlar göre daha çok sayıda ve daha belirgin olarak saptandı. Kuluçkanın son günlerine doğru makroskobik olarak sadece enfekte embriyoların ve **BF**'larının kontrollere göre daha küçük oluşu ve enfekte embriyo **BF**'larının kontrollere göre daha sert ve yüzeylerinin pürüzlü bir görünümde olduğu saptandı.

4) Mikroskobik muayenelerde en belirgin lezyonlar **BF**'ta saptandı. İnokülasyon sonrası üçüncü günde plika epitel hücrelerinin yassılaştığı ve döküldüğü lamina proprianın ise hafif şiddette ödemli olduğu gözlemlendi. Dördüncü inokülasyon gününden başlayarak, lamina propriada ödem, hemoraji ve kapillar damarlarda hiperemi ile karakterize lezyonlar yaklaşık üç veya dört gün heriki enfekte grupta da dikkat çekici idi. Başlangıçta **BF**'un subserozasında saptanan adı geçen lezyonların zamanla plikaların üst kesimlerine doğru yayıldığı saptandı.

Enfekte embriyo gruplarında bursal folliküllerin epitel tomurcukların oluşmaya başlamasından itibaren kontrollere göre genellikle daha geç şekillendiği, şekillenen lenfoid folliküllerin ise daha az ve seyrek olarak yerleşmiş

bir lenfosit içeriğine sahip oldukları saptandı. Ayrıca inokülasyonun 4-5. günlerinde BF'un lamina propriasında ve nadiren de bursa lümeninde heterofil granülositlerin artışı ya da infiltrasyonları ile karakterize lezyonlar gözlemlendi. Altıncı ve yedinci kuluçka günlerinden itibaren anılan hücreler interfolliküler bağdokuda ve hatta folliküllerin içerisinde de rastlanılmış olmakla birlikte bunların sayıları önceki gruplara göre belirgin bir derecede azalmış idi. Kuluçka süresinin sonlarına doğru ise atrofik, rejenere ve glandular tipte olmak üzere üç farklı mikroskopik görünümde folliküllerinin varlığı söz konusu idi. Genellikle atrofik ve glandular görünümdeki folliküllerin arasındaki interfolliküler bağ dokuda fibroplazi saptandı.

5) Karaciğerde sinuzoidlerin ve kan damarlarının eritrositlerle dolarak trabekülaların adeta sıkıştığı, hepatositlerde yer yer karyoreksisin şekillendiği ayrıca mozaik ya da mermer manzarasındaki makroskopik lezyonların ise subkapsüler ve genellikle fokal nekrotik odaklardan oluştuğu dikkati çekti. Tüm bu lezyonların inokülasyon sonrası 3-9. günlerde sınırlı kaldığı ve özellikle subkapsüler nekrozların sarıkeseye inokülasyon yapılan embriyolarda daha yaygın olarak şekillendiği kaydedildi.

6) Metanefrozlarda intertubuler kapillar damar hiperemileri, proksimal tubulus ve toplayıcı kanal epitellerinde parankim dejenerasyonu, deskuamasyon ve tubulus lumenlerinin dilatasyonu ile karakterize lezyonlar heriki deneysel grupta inokülasyon sonrası üçüncü günden başlayarak ve tüm deneme süresince ortaya konuldu

7) KAM ektodermal epitel hücrelerinde hidropik dejenerasyon, deskuamasyon, mezenşimal dokuda ödem, konjesyon, hemoraji, heterofil granülosit ve lenfositler hücre infiltrasyonları gözlemlendi.

8) İskelet kaslarında mikroskopik olarak hemoraji, ödem, hyalin dejenerasyonu, nekroz, mononükleer hücre infiltrasyonları ile ektopik lenfoid odaklar saptandı. Ayrıca beyin ve beyincikte, Harder bezi ile akciğerlerde fokal hemorajilerin ve/veya konjesyonların varlığı dikkati çekti.

9) Sonuç olarak diğer birçok kanatlı embriyolarında olduğu üzere kaz embriyolarına da IBDV inokülasyonlarının ölümlere ve spesifik morfolojik lezyonlara öncülük ettiği saptandı.

8. SUMMARY

Morphological Changes in Developing Goose (*Anser anser*) Embryos Inoculated with Indigenous Isolate of Chick Infectious Bursal Disease Virus (IBDV)

The current study was conducted to demonstrate and assess the morphological changes in goose embryos caused by indigenous, chicken isolate of **Infectious Bursal Disease Virus (IBDV)** inoculated into allantoic cavity (AC) or yolk sac (YS). Twenty seventh chicken embryo passage of **IBDV** suspensions with embryo lethal dose₅₀ of $10^{-3}/0.2$ ml (ELD₅₀ $10^{-3}/0.2$ ml) were used to infect embryonated eggs, obtained from the flocks with no history of **IBDV** infection and vaccination. Twelve and fourteen --day--old embryos were inoculated in YS and AC routes respectively at the dose of 0.2 ml viral suspension. The eggs from experimental groups were candled three times daily. Deaths occurring in the first forty eight hours after the inoculation were not taken into consideration. Everyday, beginning from the third day of inoculations, determined number of embryos from the control and experimental groups were taken out of incubator. **BF** and total body weights, the lengths and widths of embryos were weight and measured in experimental (Group-YS and Group - AC) and control groups. These measurements were continued until the last day of incubation. The experiment was repeated four times. Standart deviations of values relating with measurements and weights were calculated. *T* test was performed on the control and experimental groups. Tissue samples were taken from **BF**, thymus, glandula Harder, spleen, metanephrosis, mesonephrosis, skeletal muscles, heart, chorioallantoic membrane (CAM) and liver after the systemic necropsy. Tissue sections were stained with hematoxylin - eosin and if necessary van Gieson (vG), methyl green pyronin and Oil Red O (ORO) staining methods were also used. The main macroscopic and microscopic findings that were obtained as follows.

1) Inoculation of the virus into the YS induced more mortality than AC inoculations during 3 to 10 days postinoculation period with 36.78 % and 21.82 % mortality rates, respectively. This difference may be related to the inoculation routes and to the age of embryo inoculated. However, even these mortality rates were less than in most of the other avian embryo species.

2) The mean values relating with body weight and rump were significantly higher in both experimental groups than the control amongst 3-8 days of postinoculation in Group YS and 3-6 days of postinoculation in Group-AC. This contrariety in suggested incubation days, between control and experimental groups, might be the result of edema and hemorrhage occurred on abdominal and rump parts of the body. Throughout the study; embryo length, embryo weight and rump width values were smaller in Group YS and Group AC from at eight and six days, respectively, up to last incubation day. These results indicated that **IBDV** in the goose embryo induced embryonal dwarfism identified by discontinuing or hindrancing embryonic development. Though the values relating with bursal weight were higher in experimental groups, until the 3rd and 8th days of posinoculation period, afterwards the bursal weight was lighter in experimental groups. These distinctions could as well be explained by edema and hemorrhage development at first and suppression of lymphoid follicle formation later in **BF**.

3) Although morphological changes in both experimental groups (Group YS and Group AC) were alike in general fashion, it was ascertained that more severe lesions had occurred in the embryos of Group YS. The edema, observed in **BF**, peribursal tissues and lower parts of the abdominal zones on the third day of inoculation, generalized to the **BF**, skin, subcutis and skeletal muscles of head, neck, chest and legs on the fifth day. Slight degrees of hemorrhage also began to be observed in referred to body parts on the fifth day and increased thereafter. As the edema declined, hemorrhage became more prominent lesion. After the tenth day of inoculation, neither edema nor hemorrhage was perceived. Diffuse or focal pin point haemorrhagic foci were detected on serosal surface of the metanephrosis, spleen and intestinal serosa. The hepatic lesions were observed from third to sixth days of postinoculation. These were consisted of swollen and blunt edges of the liver along with it's mosaic or marble as appearance distinguished by white or grey linear designing like lesions on both parietal and visceral covers of the capsule. Varying grade of edema and hemorrhage in CAM were also distinct detected lesions in infected embryos excepting the final three or four days of incubation. Following tenth or twelfth day of inoculation, smaller shape and solid or firm in texture of **BF** in addition to varying stage of embryonal dwarfism as compared to control were the only lesions perceived.

4) The most outstanding lesions were detected in **BF**. Desquamation and flattening of epithelial cells of plicae and mild edema in subserosa started arising on the third day of postinoculation. Beginning on the fourth day, the lesions that were distinctive by hemorrhage, capillary hyperemia, edema in the lamina propria were observed and persisted for three or four days in both groups. The lesions diffused to the plicae by the time.

Bursal follicles begin to form later in experimental groups as compared to the control. It was determined that beginning from the epithel bud formation, lymphoid follicles contained less number and scarce lymphocyte population. Infiltration or increases in the number of heterophil granulocyte begin to be detected during 4-5th days of postinoculations in lamina propria of **BF**. Infrequently, these cells infiltrated into the lumen. Although heterophils were observed in interfollicular connective tissue and in lymphoid follicles following 6-7th days of postinoculation, their numbers were reduced considerably. Three different types of lymphoid follicles that are regenerated, glandular and regressive, were demonstrated in **BF** of experimental groups.

5) Accompanying patchy karyorrhexis of hepatocytes, liver trabeculas had compressed appearance as sinusoids and blood vessels were extremely packed with erythrocytes. Mosaic or marble presentation of the liver in gross examinations was distinguished as subcapsular, coagulative necrotic foci in microscopic examinations.

6) Arising on the first day of inoculation, miscellaneous degree of cloudy swelling, necrosis and desquamation of epithelial cells in proximal and convoluted tubulus accompanying diffuse hemorrhage, congestion and intertubular capillary hyperemia were detected in metanephrosis through the study.

7) Hydropic degeneration and desquamation in epithelial cells of ectoderm, edema, hyperemia, hemorrhage, lymphocyte and heterophil granulocyte infiltration in mesenchyma of CAM were the principal microscopic findings.

8) Hemorrhage, edema, hyaline degeneration, necrosis, mononuclear cell infiltration were viewed microscopically in skeletal muscles. Focal hemorrhages were also detected in cerebrum, cerebellum and glandula Harder.

9) As a result, it was concluded that **IBDV** also induced mortality in addition to specific morphologic changes in the goose embryo as other avian species.

9. TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı bana bir doktora tezi olarak veren ve doktora çalışmalarım süresince yardımlarını esirgemeyen değerli hocam sayın *Prof. Dr. Nursal METİN*'e saygı ve şükranlarımı sunarım. F.Ü Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden sayın hocam *Doç.Dr. Harun ÖZER*'e ve şu anda Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda görev yapan sayın hocam *M.Müfit KAHRAMAN*'a içtenlikle teşekkür ederim.

Araştırmanın yürütülmesi sırasında yumurta teminindeki katkılarından dolayı Tarım Bakanlığı Kars Kaz Üretim İstasyonu Müdürlüğüne ve Kars Veteriner Fakültesi Dekanı *Prof. Dr. Necdet LELOĞLU*'na ve Dekan Yardımcıları sayın *Prof. Dr. Seçkin GÜNDÜZ*e ve sayın *Prof. Dr. Necati KAYA*'ya, son olarak ancak diğer katkıda bulunanlardan az olmayarak virusun hazırlanmasında, inokülasyonunda ve Agar Gell Immunodiffusion (AGID) testinin yapılmasındaki katkılarından dolayı sayın *Prof. Dr. Mehmet KANDİL*'e ve sayın *Doç. Dr. Hasan Basri GÜLCÜ*'ye teşekkürü bir borç bilirim.