

Bursa Yöresinde Avian Encephalomyelitis Salgını

Gürsel SÖNMEZ*

K. Tayfun ÇARLI**

Erdogan ERTÜRK***

ÖZET

Bursa bölgesinde bulunan bir tavuk çiftliğinin 2 kümesinde titremeler, inkoordinasyon, tortikollis ve felçlerle seyreden bir hastalık ortaya çıkmıştır. Yapılan otopsilerde merkezi sinir sisteminde, özellikle hemisferlerin korteksinde 1-3 mm. çapında, simetrik veya asimetrik, boz beyaz lekeler görüldü. İç organlarda bariz bir bozukluğa rastlanmadı.

Histopatolojik yoklamada, beyinde perivasküler lenfosit infiltrasyonları, gliozis, kromatolizis ve nöron nekrozu ilk göze çarpan değişikliklerdi. İç organların, özellikle pankreas'ın histopatolojisinde, regioner lenf foliküllerinde hastalığa özgü olarak kabul edilen hiperplaziler saptandı.

Ayrımsal tanı için gerekli bakteriyolojik, mikolojik ve serolojik testlerden olumsuz sonuçlar alındı.

Hazırlanan inokulumun günlük duyarlı civcivlere inokülasyonu sonucu, bu civcivlerde ilk salgın hastalık lezyonlarının meydana geldiği görüldü.

Bu bulgular ve sağtım için antibiyoterapi ve E vitamini uygulamasından sonuç alınamaması; epideminin Avian encephalomyelitis için tipik olan bir aylık piliçlerde ani çıkış ve 2-3 haftada % 10 ölüm ile kendiliğinden sönmesi hastalığın tanımı için yeterli görüldü.

* Araş. Gör.; U.Ü. Veteriner Fak. Patoloji Anabilim Dalı, Bursa.

** Yrd. Doç. Dr.; U.Ü. Veteriner Fak. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bursa.

*** Prof. Dr.; U.Ü. Veteriner Fak. Patoloji Anabilim Dalı, Bursa.

SUMMARY

Avian Encephalomyelitis in Bursa

An outbreak with the clinical symptoms of shivering, incoordination, torticollis and paralysis was noticed among two flocks on a chicken farm in Bursa.

Upon the autopsies, symmetrical or asymmetrical grayish-white spots with a diameter of 1-3 mm, were observed in the central nervous system, especially more frequent in the cortex of hemispheres. There were no significant lesions in visceral organs. Histopathologically, perivascular lymphocytic infiltrations, gliosis, chromatolysis and neuronal necrosis were readily detectable. Peculiar lymphocytic hyperplasia and infiltrations were noted in the regional lymph nodes of pancreas.

Bacteriological, mycological and serological tests applied for differential diagnosis gave negative results.

Inoculations to the susceptible one-day-old chicks produced lesions similar to those of the main disease seen in the flocks.

The negative results from antibiotherapy and vitamin E administration, and the sudden outbreak and death of this epidemic in a month-old chicks with 10 % mortality were typical for Avian encephalomyelitis that is also known as Epidemic tremor in Turkey.

GİRİŞ

Epidemic tremor, Avian Encephalomyelitis ya da civcivlerin salgın titreme hastalığı diye bilinen bu viral hastalık, genç hayvanlarda dengesiz ve sallantılı yürüyüş, felç, baş ve boyun ile tüm vücuda yayılan titremeler ile ortaya çıkar. Merkezi sinir sistemine özel viral bir salgındır^{1.2.3}. Hastalık, dünyada çok yaygın olup, genellikle 1-2 haftalık piliçleri yakalar⁴. Başta tavuklar olmak üzere hindi, bıldırcın ve sülünlerin de duyarlı olduğu² virus, picorna grubundandır⁵. Bulaşma ya yumurta ya da sindirim kanalı yoluyla olur. Bu bulaşma yollarından ilki civcivler, ikincisi ise erginler açısından önem taşımaktadır^{1.3.4.5.6}. İnkübasyon süresi embriyo devrinde bulaşan civcivlerde 1-7 gün, sindirim yoluyla ise 11 gündür^{3.5.7}. Virusu alarak hastalığa yakalanan damızlık tavuklarda, yumurta veriminde % 5-10 oranında düşme gözlenir. Ergin tavuklar klinik belirti göstermeden, gizli enfeksiyon şeklinde 3-4 hafta kalırlar ve zamanla iyileşirler^{3.4.8}. Enfeksiyon, civcivlerde % 40-60 oranında morbidite ve ortalama % 25 oranında mortaliteyle seyrederek². Otopside, iç organlarda ve merkezi sinir sisteminde bariz bir bozukluğa rastlanmaz^{1.2.3.5}. Histopatolojik bulgular tipik olup, beynin korteksinde perivasküler lenfosit infiltrasyonu, neuron dejenerasyonu, chromatolysis ve hücrelerde nekroz tanıtıcı özelliktedir^{3.5.6.7.9.10}. Medulla spinalis'te de perivasküler lenfosit infiltrasyonu, neuron dejenerasyonu, gliosis³ ile cervical ve thoracic bölgelerde kök ganglionlarında, damar endotelinde ve kapsül epitel hücrele-

rinde şişme ve nekroz oluşur⁹. İç organlarda regioner lenf follikolleri hiperplaziktir. Bu hiperplazilerde özellikle bezli mide, pankreas, karaciğer, böbrek ve kalbe ait lenf foliküllerinde rastlanmaktadır^{1.3.5.10}. Başta beyin olmak üzere, hasta organlardan hazırlanan inokulumun günlük civcivlere intracranial veya intramuscular yolla verilmesiyle enfeksiyonun experimental olarak oluşturulması ve bu civcivlerin hasta organlarının histopatolojik muayeneleri sonucu virusa özgü lezyonların görülmesi hastalığın ayırıcı tanısı açısından önem taşımaktadır⁵. Serolojik testler, özellikle serum nötralizasyon testi, Avian Encephalomyelitis enfeksiyonunun teşhisinde önemli rol oynar^{7.11}. Bu testin sonucunu histopatolojik tablo ile birleştirilmesi hastalığın teşhisinde tereddüte yer bırakmaz⁷. Hastalığın ayırıcı teşhisine gidilirken, sinir sistemine ait diğer hastalıkların teşhisine yönelik bakteriyolojik ve serolojik testlerin de uygulanması gerekli olabilir⁵.

Bu yayın, sinirsel semptomların gözleendiği 6 haftalık Iso-Brown Studler ırkı piliçlerde öldürücü seyreden salgının ayırıcı tanısı için gönderilen canlı ve ölü materyal üzerinde gerçekleştirilen bir observasyonu rapor etmek için yapılmıştır.

MATERYAL VE METOD

Piliçler ve elde edildikleri çiftlik: Bu çalışmada 400.000 tavuk kapasiteli bir işletmenin, 2 civciv büyütme kümesinden sağlanan 20 adet, 6 haftalık Iso-Brown Studler ırkı piliç kullanılmıştır.

Klinik gözlemlerden sonra, histopatolojik incelemeler için 15 pilicin beyin, beyincik, pankreas, bezli mide, Bursa fabricius, kalp ve duodenumundan parçalar alınarak % 10'luk tamponlu formolde tespit edilmiştir. Tespit işlemi 72 saat sürmüş ve işlenecek dokular autoteknicon'da dehidre edildikten sonra parafin blokları hazırlanmıştır. Bloklar 5 mikron kalınlığında kesilerek Erlich Hematoxylin-Eosin boyama metodu ile boyanmış ve ışık mikroskopunda incelenmiştir¹¹.

Mikrobiyolojik yoklamalar için aynı organlardan Salmonellosis, Arizonosis ve Aspergillois enfeksiyonları yönünden Tetrathionate broth, EMB, SS, Sabouroud dextrose agar'a ekimler yapılmıştır.

Serolojik olarak, hayvanlarda Newcastle hastalığına karşı oluşmuş bulunabileceği düşünülen antikor titrelerinin belirlenmesi amacıyla 15 hayvandan elde edilen serumlarla Hemaglutinasyon İnhibisyon (HI) testi yapılmıştır^{3.12}.

Hayvan deneyi amacıyla, 3 piliçten otopsi yapılarak steril olarak sağlanan beyinlerden inokulum hazırlandı. bu amaçla infekte beyinler, her ml'sinde 1000 IU penisilin, 100 µg steptomisin içeren, pH 7.2'ye ayarlanmış, fosfat bufferlı fizyolojik tuzlu suda 1/10 oranında olacak şekilde süspanse edilip, santrifüj tüpüne aktarılarak 1000 devir/dk. + 4°C'de 15-20 dk. santrifüje edildi. Üst sıvı alındı, kanlı agar ve serumlu buyyonda sterilite kontrolü yapıldıktan sonra, hastalığa

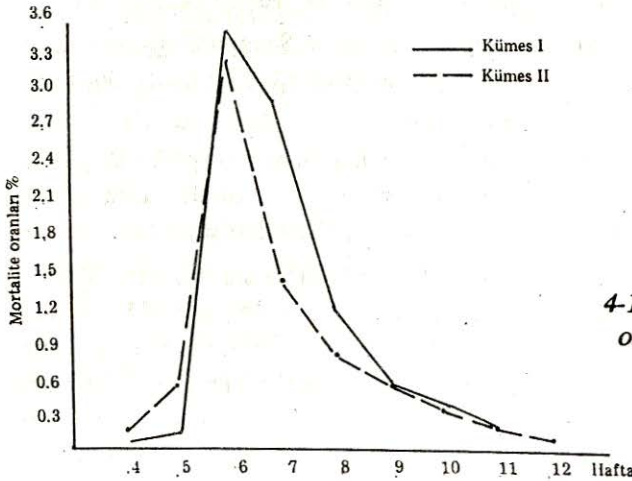
duyarlı günlük 2 adet civcive intrakranial olarak verildi. İki adet civciv de kontrol olarak 30 gün süreyle gözlemlendi⁵.

BULGULAR

Klinik Bulgular: Enfeksiyon, işletmenin civciv büyütme kümeslerinde, ku-
luçkadan sonraki 28. günde ortaya çıkmıştır. Kümeslerdeki enfeksiyonun seyri
ile mortalite oranları Tablo: I ve Grafik: 1'de verilmiştir.

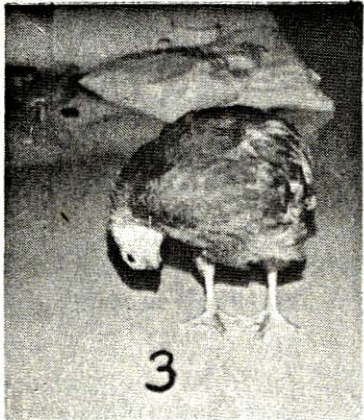
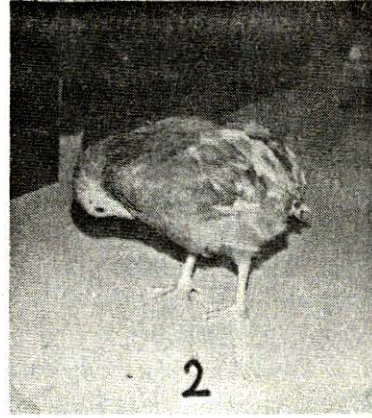
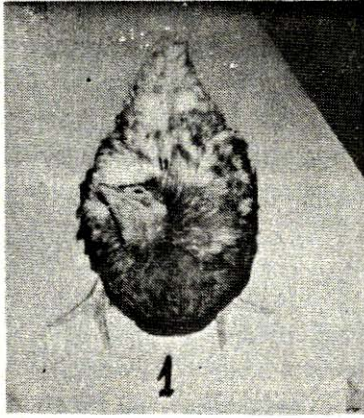
Tablo: I
4-12. Haftalar Arası Kümeslerde Mortalite Oranları

Hafta	Kümes			
	I		II	
	Ölü Sayısı	%	Ölü Sayısı	%
4	47	0.15	22	0.08
5	182	0.58	320	0.98
6	1009	3.24	1133	3.50
7	430	1.43	895	2.90
8	239	0.80	388	1.29
9	171	0.58	174	0.58
10	102	0.34	117	0.39
11	57	0.19	58	0.19
12	33	0.11	55	0.18
Toplam	2270	7.42	3162	10.02



Grafik: 1
4-12 haftalar arası mortalite oranlarının haftalara göre değişimi

Enfekte piliçlerde belirgin klinik semptom olarak titreme, inkoordinasyon, tortikollis ve paralizler saptanmıştır (Resim: 1-4). Hastalığı atlatan piliçlerde tortikollis devam etmiştir.



Resim: 1 - *Iso-Brown Studler ırkı 6 haftalık piliçte, Avian encephalomyelitis enfeksiyonu sonu, başın geriye çekik hali (Tortikollis). (Tortikollis related to Avian encephalomyelitis infection in a two-month-old Studler chick)*

Resim: 2 - *Aynı hastalıkta başın göğüs altına doğru saklanması. (Head hiding of a chick suffering from Avian encephalomyelitis)*

Resim: 3 - *Boynun bükülmesi sonu başın ters dönmüş hali. (Reverse position of head of a chick with Avian encephalomyelitis)*

Resim: 4 - *Boynun 180 derecelik dönüşü tamamlaması ile gaganın yukarıya doğru yönelmesi. (Reverse position of chicken peck due to the hundred eighty turning of the head)*

Otopsi Bulguları: Klinik semptom gösteren piliçlerin otopsilerinde Merkezi Sinir Sisteminde, özellikle hemisferlerin kortexinde 1-3 mm çapında ve 1-4 mm derinlikte, simetrik veya asimetrik, boz-beyaz renkte, yumuşamış, içi berrak sıvıyla dolu boşluklar dikkati çekmekteydi. İç organlarda bariz bir bozukluğa rastlanmadı.

Histopatolojik Bulgular: Enfeksiyonun şiddetine göre değişen, bir veya her iki hemisferde, simetrik veya asimetrik olarak, kortexin yüzeyinden derinlere doğru uzanan, değişik büyüklüklerde erimeler şeklinde nekroz sahaları görüldü. Bu nekrotik sahalar, lenfosit ve mikroglia hücreleriyle infiltrat olmuş ve etrafları da kuşatılmıştı. Bazı mikroglia hücreleri, sitoplazmalarının yağ damlacıkları ile dolması sonu Gitter makrofajları şeklini almıştı (Resim: 5). Ayrıca, özellikle nekrotik odakların çevresinde bariz olmak üzere, perivasküler lenfosit infiltrasyonu ile genişçe vakuoller tarzında demyelinize sahalar da oluşmuştu. Bu demyelinizasyonlar etrafında, bazı neuronların şişerek, yuvarlaklaştığı ve çekirdeklerinde kromatinin kümeleşip parçalanmakta olduğu (Karyopiknose-Karyorhexis), ayrıca Nissl cisimciklerinin de eriyerek gözden kaybolduğu (Chromatolysis) dikkati çekmiştir. Bu piknotik neuronların kromatinlerinin çekirdek membranı altına itildiği, sitoplazmalarının ise homojen pembe renk aldığı ve nekrotik sahalarda mavi-mor renkte, homojen, şekilsiz yapılara dönüştüğü gözlenmiştir (Resim: 6).

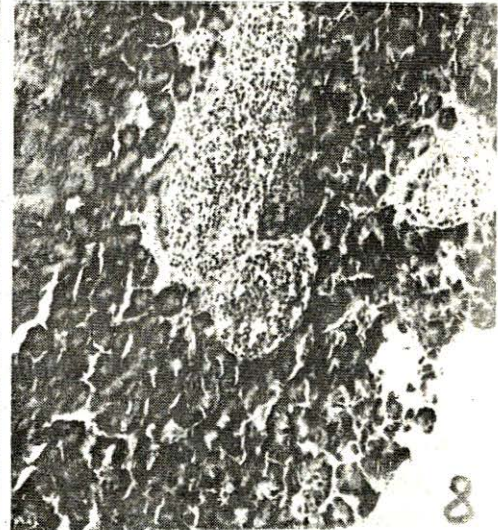
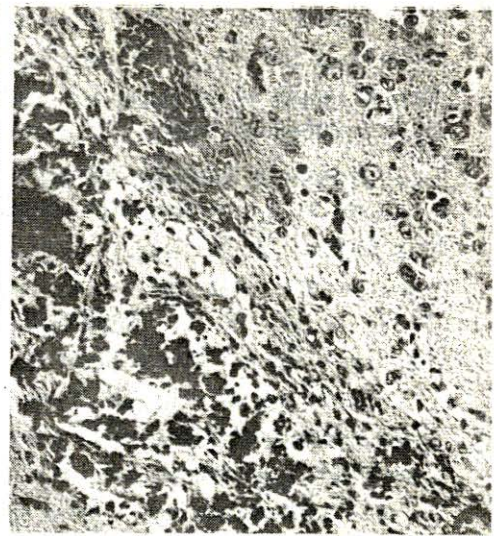
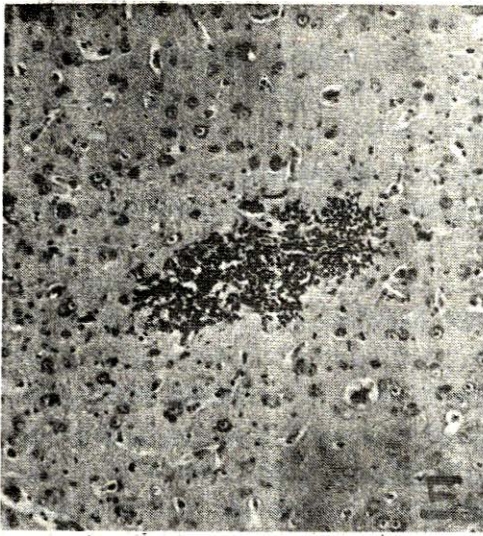
Pankreas, proventrikulus, karaciğer, böbrek ve kalp gibi iç organların parankimiyle bu organlara ait lenf folliküllerinde dikkati çekecek kadar bariz lymphoid hyperplasia görülmekteydi (Resim: 7, 8).

Mikrobiyolojik Muayeneler: 15 hayvandan alınan organların bakteriyolojik ve mikolojik yoklamaları sonucunda herhangi bir bakteri ve mantar izole edilemedi.

Serolojik Muayeneler: Hayvanlardaki olası Newcastle hastalığına karşı antikor titrelerinin saptanması amacıyla Hemagglutinasyon-Inhibisyon testi yapıldı ve Tablo: II'deki sonuçlar alındı.

Tablo: II
Enfekte Piliçlerin Kan Serumunda HI Testi ile
Saptanan Newcastle Antikor Titreleleri

Antikor Titresi	Piliç Sayısı
2^5	8
2^6	5
2^7	7



Resim: 5 - Beyinde neuronlarda degeneration, fokal nekroz sahası ve gliosis. H.E. X300. (Neuronal degeneration, focal necrosis and gliosis in cerebral cortex)

Resim: 6 - Geniş bir nekroz sahası içinde neuroglia infiltrasyonu ve perivaskuler lenfosit infiltrasyonu. H.E.X600. (Higher magnification of large necrosis infiltrated with neuroglia and perivascular cuffing of a small blood vessel)

Resim: 7 - Bezli midede lenfositlerin bağ doku içine infiltre oluşu. H.E.X120. (Interstitial lymphocytic infiltrations in part of glandular proventriculus)

Resim: 8 - Exokrin pankreasta lenfosit infiltrasyonu. H.E.X300. (Large area of lymphocytic infiltrations in the excretory portion of pancreas)

Günlük Cıvcıvlere İnokulasyon: Hayvanların birincisinde 17. gün, ikincisinde 23. günde ana hastalık tablosuna ait klinik belirtiler gözlemlendikten sonra, otopsileri yapılarak beyin, beyincik, pankreas ve bezli mideleri Avian Encephalomyelitis yönünden histopatolojik olarak incelendiler.

Beyinde perivasküler lenfosit infiltrasyonu, gliosis, neuronlarda dejenerasyon, kromatoliz ve nekroz ile iç organlarda fokal lenfosit infiltrasyonlarına rastlandı.

TARTIŞMA VE SONUÇ

İnfeksiyonun olduğu kümeslerdeki piliçlerde, hastalığın tipik klinik semptomları olarak belirtilen^{1,2,3} titreme, inkoordinasyon, tortikollis ve paralysis gözlemlenmiştir. Hastalık genellikle 1-2 haftalık piliçlerde görülmekle birlikte 6 haftalığa kadarki yaşam periyodunda oluşabilir⁴. Bu çalışmadaki piliçlerde hastalığın klinik belirtileri 4. haftada başlamış ve 6. haftada incelemeye alınmıştır.

Hastalığın incelendiği sürüde mortalite oranları 1. küme ortalama % 7.42 ve 2. küme ortalama % 10.02 olarak belirlenmiştir. Klasik literatüre göre Avian encephalitis infeksiyonunda mortalite oranı % 25 olarak belirtilmiştir². Mortalite oranının bu çalışmada az oluşu, cıvcıvlarda bulunan ve onların parentlerinden gelen maternal antikor düzeylerinin düşük olmasına bağlanabilir. Bundan dolayı damızlık sürülerden elde edilen embriyolu yumurtaların her grup cıvciv üretiminde immünite düzeylerinin belirlenerek, bunların AE infeksiyonuna karşı duyarlılıkları saptanmalı ve Parent Stockların aşılama aşılama yapılmıyacağına karar verilmelidir.

Histopatolojik bulgular bu hastalığın kesin tanısı açısından çok önemlidir. Beyinde perivasküler lenfosit infiltrasyonu, neuronlarda dejenerasyon, chromatolysis ve nekroz ilk gözlenen hastalık belirtileridir^{3,5,6,7,9,10}. Bu çalışmada da beyinin histopatolojik yoklamasında yukarıda sayılan bulgulara uygun lezyonlar saptanmıştır. İç organlarda tüm regioner lenf follikülleri hiperplaziye olmuştur. Bu hiperplazilere özellikle bezli mide, pankreas, böbrek ve kalbe ait lenf foliküllerinde rastlanmıştır. Hiperplazilerin, Springer ve Schmittle¹⁰, Sağkal³ ve Akay⁵ tarafından hastalığın tanısında patognomonik değere sahip oldukları bildirilmiştir.

Avian Encephalitis vakaları, Newcastle, Salmonella, Arizona, Aspergillus gibi sınırsız semptomlarla seyreden diğer infeksiyon hastalıklarından ayırt edilmelidir^{3,5,6}. Bundan dolayı, bu çalışmada Newcastle antikor titrelerine HI testi ile bakılmış ve infeksiyonla ilgili bir durum gözlenmemiştir. Marek hastalığının ayırıcı teşhisi de histopatolojik muayenelere göre yapılmış ve benzemediği görülmüştür. Salmonella, Arizona, Aspergillus tipi mikroorganizmalardan ileri gele-

cek infeksiyonların varlığı ise bakteriyolojik ve mikolojik muayeneler sonucu elimine edilmiştir. Bu sonuçlar tablonun Avian encephalitis infeksiyonuna doğru yönelmesini güçlendirmiştir.

Direkt histopatolojik bulguları destekleyici olarak, günlük civcivlere klinik materyalden hazırlanan inokulum'un verilmesi sonucu oluşan lezyonlu dokuların histopatolojik bulgularının aynı oluşu, teşhisi sağlamlaştırır^{5,10}. Bu araştırmada da hazırlanan inokulumun günlük duyarlı civcivlere intrakranial yolla verilmesi sonucu oluşan klinik tablo, ana klinik tablonun aynısıydı. Klinik semptom gösteren bu deney civcivlerinden alınan iç organların histopatolojik muayene bulguları ana histopatolojik lezyonlar ile paralellik gösteriyordu.

Bu çalışmanın ışığı altında, Türkiye tavukçuluğunda Avian Encephalitis olgularının da bir sorun olabileceği düşüncesiyle, infekte ve bağışık sürülerin özellikle damızlık işletmelerde gözden geçirilmesinin faydalı olacağı kanısındayız.

KAYNAKLAR

1. HEIDI, L.V.: The Fluorescent Antibody Technique in the diagnosis of avian encephalomyelitis. Life Science and Agriculture Exp. Station. Technical Bulletin 44, (1970).
2. BAINS, B.S.: A manual of poultry diseases. F. Hoffmann-La Roche and Comp. Ltd., Basle, (1979).
3. SAĞKAL, S.: Avian Encephalomyelitis, TÜBİTAK Bilgi Profili No: 24.
4. CALNEK, B.W., TAYLOR, P.J., SEVOIAN, M.: Studies on avian encephalomyelitis. IV Epizootiology., Avian Dis., 4, 325-347, (1960).
5. AKAY, Ö.: Avian Encephalomyelitis. Kanatlı hayvanların infeksiyon hastalıkları ve laboratuvar teşhis yöntemleri, Pendik Vet. Kont. Araş. Ens. Yayınları No: 7, İstanbul, 145-151, (1983).
6. LUGINBUHL, R.E., HELMBOLDT, C.F.: Avian Encephalitis, Diseases of poultry, Iowa State Univ. Press, Ames, Iowa, Seventh ed., 537-547, (1978).
7. MOHANTY, G.C., WEST, J.L.: Research note: Some observation on experimental avian encephalomyelitis, Avian Dis., 12:689-693, (1968).
8. TAYLOR, L.W., LOWRY, D.G., RAGGI, L.G.: Effect of an outbreak of avian encephalomyelitis in a breeding flock, Poultry Sci., 34:1036-1045, (1955).
9. MOHANTY, G.C., WEST, J.L.: Avian encephalomyelitis: Patogenesis and histologic features of dorsal root ganglia lesions in chicks. Avian Dis., 1:31-41, (1973).

10. SPRINGER, W.T., SCHMITTLE, S.C.: Avian encephalomyelitis: A chronological study of the histopatogenesis in selected tissues. Avian Dis., 12:229-239, (1969).
11. LUNA, L.G.: Manuel of histologic staining methods of the armed forces institute of pathology, third ed., Mc Graw-Hill Book Comp., New York, Toronto, Sydney, (1968).
12. CALNEK, B.W., JEHNICH, H.: Studies on avian encephalomyelitis. I. The use of the serum neutralization test in the detection of immunity levels. Avian Dis., 3:95-104, (1959).