

# Tavuk ve Hindilerin Turkey Rhinotracheitis Virus (TRTV) İnfeksiyonu Üzerinde Serolojik ve Mikrobiyolojik İncelemeler\*

Yavuz ÇOKAL

Balıkesir Üniversitesi, Bandırma Meslek Yüksekokulu, Balıkesir - TÜRKİYE

Ayşin ŞEN

Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bursa - TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 17.08.2001

**Özet:** Swollen head syndrome (SHS) klinik semptomu gözlenen 9 adet broyler ve 7 adet broyler damızlık kümesine ait toplam 426 serum örneği incelendi. Ticari bir ELISA kiti ile yapılan inceleme sonucunda, 8 adet broyler sürüde % 31,8-75,9 oranlarında, broyler damızlık sürülerde ise % 5,4-48,6 oranlarında anti-Turkey rhinotracheitis virus (TRTV) antikorları tespit edildi. Broiler ve broyler damızlıklarda SHS için tipik klinik semptomlar gözlemlendi. Çalışma süresinde, klinik semptom gösteren hindi sürüsü tespit edilmedi. On adet broyler sürünün 7 adedinde % 5,5-80 oranlarında, 4 adet besi hindi sürüsünün 3 adedinde % 20-57,1 oranlarında, 6 adet damızlık hindi sürüsünün 2 adedinde % 10,5 ve % 11,1 oranlarında anti-TRTV antikorları saptandı. Bakteriolojik incelemede, 9 adet broyler ve 2 adet broyler damızlık sürüde toplam 38 adet *E. coli* izole edildi. Ayrıca, bu sürülerden 6 adet *S. aureus*, 8 adet *Staphylococcus* spp. ve 2 adet *Streptococcus* spp. izole edildi. Antibiyotik duyarlılık testi sonucunda, 38 adet *E. coli* izolatının apramisine duyarlı olduğu tespit edildi. Histopatolojik lezyonlar, özellikle başın subkutan dokusunda ve üst solunum yolu dokularında tespit edildi.

**Anahtar Sözcükler:** Turkey rhinotracheitis virus (TRTV) enfeksiyonu, ELISA, tavuk, hindi

## Serological and Microbiological Investigation on Turkey Rhinotracheitis Virus (TRTV) Infection of Chickens and Turkeys

**Abstract:** A total of 426 serum samples were examined from 9 broiler and 7 broiler breeder flocks showing clinical signs of swollen head syndrome (SHS). Turkey rhinotracheitis virus antibodies in 8 broiler flocks were between 31.8 and 75.9% and in broiler breeder flocks between 5.4 and 48.6%, with a commercial ELISA. Typical clinical symptoms were observed for SHS in broilers and broiler breeders. During the study, turkey flocks showing clinical signs were not detected. The antibodies to TRTV were between 5.5 and 80.0% in 7 out of 10 broiler flocks, and between 20.0 and 57.1% in 3 out of 4 fattening turkey flocks, 10.5 and 11.1% in 2 out of 6 breeder turkey flocks. In the bacteriological investigation, a total of 38 *E. coli* isolates were obtained from 9 broiler and 2 broiler breeder flocks. In addition, 6 *S. aureus*, 8 *Staphylococcus* spp. and 2 *Streptococcus* spp. were isolated from these flocks. The antibiotic sensitivity test revealed that all 38 *E. coli* isolates were sensitive to apramycin. Histopathological lesions were present especially in the subcutaneous tissue of the head and upper respiratory tissue.

**Key Words:** Turkey rhinotracheitis virus (TRTV) infection, ELISA, chicken, turkey

## Giriş

Turkey rhinotracheitis virus (TRTV) *Paramyxoviridae* ailesi, *Pneumovirinae* alt ailesi, *Metapneumovirus* genusunda klasifiye edilmektedir (1). Virus, hindilerde Turkey rhinotracheitis (TRT) ve tavuklarda Swollen head syndrome (SHS) olarak bilinen hastalık tablolarına neden olmaktadır. Her iki türdeki enfeksiyonda öncelikle üst solunum yolları etkilenmekte, broyler damızlıklarda ise, solunum yolu semptomları yanı sıra sinirsel semptomlar

ile yumurta veriminde düşme gözlenmektedir (2,3,4). Klinik tablonun ortaya çıkışında sekonder patojenlerin ve yetiştirme koşullarının önemli rolü bulunmaktadır (5-8). İnfeksiyonun tanısında serolojik yöntemler önem taşımaktadır ve serum nötralizasyon (9) immunofluoresans (10) teknikleri yanı sıra çoğunlukla ELISA bu amaçla kullanılmaktadır (8). Günümüzde anti-TRTV antikorlarını ortaya koymak amacı ile çeşitli ELISA teknikleri kullanılmaktadır (11,12,13). Hindilerdeki

\* Bu çalışma aynı isimli doktora tezinden özetlenmiştir ve Uludağ Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından 99/8 nolu proje ile desteklenmiştir.

deneysel çalışmalarda, TRTV inokulasyonundan 3 gün sonra anti-TRTV antikorlarını tespit etmenin mümkün olduğu (14), titrenin 5-12. günler arasında yükseliş gösterdiği ve 89. güne kadar yüksek titrede kaldığı saptanmıştır (7,15). Pollan ve ark. (16) tipik TRT bulguları gözlenen hindilerde, kesim sırasında (22. hafta) TRTV'a karşı antikor yanıtının saptandığını bildirmişlerdir. Tavuklarda da benzer olarak, sahada SHS bulgularının ortaya çıkmasından sonra 14. ve 21. günlerde yüksek düzeyde anti-TRTV antikorları saptanmıştır (17,18). Deneysel çalışmalarda ise, TRTV inokule edilen tavukların serumlarında 6. ve 7. günlerde anti-TRTV antikorları tespit edilmektedir (6,19,20).

Ülkemizde son yıllarda TRTV infeksiyonundan sıklıkla söz edilmektedir. Tavukçuluğun yoğun olarak yapıldığı bölgelerde, özellikle broyler ve broyler damızlık yönlü yetiştirilen tavuklarda klinik SHS tablosu gözlenmektedir ve ülkemizde bu konu ile ilgili kapsamlı bir çalışma yapılmamıştır. Bu çalışmada, Güney Marmara Bölgesi'nde, TRT/SHS şüpheli hindi ve tavuk sürülerinde serolojik, bakteriyolojik ve histopatolojik incelemelerle TRTV infeksiyonunun sahadaki durumunun ortaya konması, bu işletmelerin yakın çevresinde bulunan, klinik olarak sağlıklı görünümlü hindi ve tavuklarda anti-TRTV antikor varlığının araştırılması amaçlandı.

## Materyal ve Metot

Çalışmada anti-TRTV antikorlarını ortaya koymak amacı ile, 172 adet sağlıklı hindi, 137 adet sağlıklı tavuk ve 426 adet SHS şüpheli tavuk kan serumu incelendi. Kan serumu örnekleri SHS aşısı uygulanmamış tavuk ve hindi sürülerinden alındı. SHS şüpheli broyler ve broyler damızlık sürüler ile klinik olarak sağlıklı hindi ve tavuk sürülerinden alınan serolojik, bakteriyolojik ve histopatolojik inceleme materyalleri Tablo 1'de ayrıntılı olarak verilmiştir.

**Kümes Kayıt Bilgileri ve Yetiştirme Koşulları:** SHS'den şüpheli broyler ve broyler damızlık sürülerin kümes kayıt bilgileri ve yetiştirme koşulları, örnek alımı esnasında, daha önce hazırlanan formlara kaydedildi.

**Serolojik İnceleme:** Serum örneklerinde anti-TRTV antikorlarını ortaya koymak amacı ile ticari ELISA kiti (Vetéquinol Diagnostics) kullanıldı ve kitin prospektüsünde belirtilen indirekt ELISA yöntemi uygulandı (21). Anti-NDV ve anti-IBV antikor titrelerinin belirlenmesi amacı ile HA ve HI test yöntemleri uygulandı (22).

**Bakteriyolojik İnceleme:** Aseptik şartlarda alınan svab örnekleri transport mediyuma aktararak organ örnekleri ile birlikte soğuk ortamda laboratuara ulaştırıldı. Bu örneklerden izole edilen bakteriler klasik yöntemlerle identifiye edildi (23).

**Antibiyotik Duyarlılık Testi:** İzolatların antibiyotiklere duyarlılıklarını belirlemek amacı ile standart disk difüzyon tekniği uygulandı (24).

**Histopatolojik İnceleme:** Baş ve iç organ örnekleri % 10'luk formaldehid solusyonu içerisine alınarak fikse edildi. Bilinen yöntemlerle hazırlanan parafin bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Tüm kesitler hematoksil-eozin ile boyanarak ışık mikroskobunda incelendi (25).

## Bulgular

**Klinik Bulgular:** SHS şüpheli broyler sürülerde, hastalığın 21-41'nci günlerde ortaya çıktığı ve hırıltı, genellikle tek taraflı başın dorsal bölgesi ile periorbital ve bazı vakalarda submandibular şişkinlik, konjunktivitis, okuler akıntı ve çapaklanma ile birlikte şişkinliğin olduğu gözde kapanma, nasal akıntı ve ishal saptandı (Şekil 1, 2). Broiler damızlık sürülerde ise üst solunum semptomları yanı sıra hastalıktan etkilenen hayvanların % 5-10'unda opistotonus, tortikollis, baş bölgesinde titreme ve inkoordinasyon gözlemlendi (Şekil 3).

**Kümes Kayıt Bilgileri ve Yetiştirme Koşulları:** SHS şüpheli broyler ve broyler damızlık sürülerin kümes kayıt bilgileri ve yetiştirme koşulları Tablo 2 ve 3'de verilmektedir.

**Nekropsi Bulguları:** SHS şüpheli broyler sürülerde, başın dorsal bölgesi ile facial ve submandibular deri altında jelatinöz eksudat tespit edildi. Nasal boşluk ve infraorbital sinusda eksudat birikimi, trakheada mukus artışı olduğu gözlemlendi. Broiler damızlık sürülerde ise, özellikle periorbital bölge deri altında jelatinöz eksudat birikimi tek makroskobik bulgu olarak tespit edildi.

**Serolojik İnceleme Sonuçları:** SHS şüpheli 9 adet broyler ve klinik olarak sağlıklı 10 adet broyler sürünün ELISA ile saptanan anti-TRTV antikor düzeyleri Tablo 4 ve 5'de verilmiştir.

Hemaglutinasyon-inhibisyon testi ile belirlenen Newcastle hastalığı virusu (anti-NDV) ve İnfeksiyöz bronşitis virusu (anti-IBV) antikor titreleri Tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 1. Hindi ve tavuk sürülerinden alınan serolojik, bakteriyolojik ve histopatolojik inceleme materyalleri

| MATERYAL                       | HİNDİ      |             | TAVUK           |                     |              |
|--------------------------------|------------|-------------|-----------------|---------------------|--------------|
|                                | Sağlıklı   |             | SHS'den şüpheli |                     | Sağlıklı     |
|                                | Besi       | Damızlık    | Broyles         | Broyles<br>Damızlık | Broyles      |
| Kan Örnekleri (Adet)           | 62<br>(4)* | 110<br>(6)* | 249<br>(9)*     | 177<br>(7)*         | 137<br>(10)* |
| Bakteriyolojik İnceleme (Adet) |            |             | (9)*            | (2)*                |              |
| İntraorbital sinus svabı       |            | -           | 46              | 8                   | -            |
| Tracheal svab                  |            | -           | 23              | 4                   | -            |
| Facial deri altı svabı         |            | -           | 2               | 1                   | -            |
| Karaciğer                      |            | -           | 19              | 2                   | -            |
| Kalp                           |            | -           | 9               | 2                   | -            |
| Histopatolojik İnceleme (Adet) |            |             | (9)*            | (2)*                |              |
| Baş                            |            | -           | 21              | 4                   | -            |
| Trachea                        |            | -           | 20              | 3                   | -            |
| Karaciğer                      |            | -           | 20              | 4                   | -            |
| Akciğer                        |            | -           | 16              | 4                   | -            |
| Dalak                          |            | -           | 14              | 2                   | -            |
| Kalp                           |            | -           | 14              | 3                   | -            |
| Böbrek                         |            | -           | 5               | 2                   | -            |

\* Örneğin alındığı sürü adedi



Şekil 1. İki numaralı broyles kümese ait tavukta konjunktivitis, infraorbital ödem ve gözde kapanma



Şekil 2. Yedi numaralı boyler kümese ait tavuklarda durgunluk, infraorbital ödem ve gözlerde kapanma



Şekil 3. Bir numaralı broyler damızlık kümese ait tavuklarda opistotonus, tortikollis ve inkoordinasyon

**Bakteriyolojik İnceleme Sonuçları:** SHS şüpheli broyler sürülerin infraorbital sinus, trakhea örneklerinden *E. coli*, *S. aureus*, *Staphylococcus* spp. ve *Streptococcus* spp. izole edilirken, karaciğer ve kalp örneklerinden sadece *E. coli* izole edildi. Bakteriyolojik yönden incelenen iki adet broyler damızlık sürüsünün birinde trakhea, diğerinde infraorbital sinus örneklerinden *E. coli* izole edildi.

SHS şüpheli broyler ve broyler damızlık sürülerden izole edilen *E. coli* izolatlarının 10 farklı antibiyotiğe ve *S. aureus*, *Staphylococcus* spp. ve *Streptococcus* spp.

izolatlarının 7 farklı antibiyotiğe duyarlılık oranları Tablo 7'de verilmiştir.

**Histopatolojik İnceleme Sonuçları:** SHS şüpheli broyler ve broyler damızlık sürüde toplam 25 adet tavuktan alınan baş ve iç organların histopatolojik incelemesinde tespit edilen lezyonların organlara göre dağılımı Tablo 8'de verilmiştir. Bazı olgularda, yüz deri altı dokusunda içlerinde bakteri kümelerinin de bulunduğu ortası nekrotik, makrofaj ve yabancı cisim dev hücreleri tarafından kuşatılmış, değişen büyüklükte granümatöz odaklar göze çarptı (Şekil 4). Burun

Table 2. SHS şüpheli broyler sürülerin kümes kayıt bilgileri ve yetiştirme koşulları

| Kümes No                                       | 1              | 2             | 3            | 4                             | 5                | 6                | 7                | 8       | 9      |
|--|----------------|---------------|--------------|-------------------------------|------------------|------------------|------------------|---------|--------|
| İrki   | Lohman         |               |              |                               |                  |                  |                  |         |        |
|  | Lohman<br>Ross | Ross<br>Avian | Ross<br>Cobb | Lohman<br>Cobb                | Ross<br>Cobb     | Ross<br>Cobb     | Ross<br>Cobb     | Cobb    | Ross   |
| Yaş<br>(gün)                                   | 28             | 41            | 29           | 27                            | 34               | 32               | 30               | 37      | 21     |
| Kümes Tipi                                     | Perdeli        | Hara          | Perdeli      | Perdeli                       | Perdeli          | Perdeli          | Perdeli          | Perdeli | Kapalı |
| Yerleşim<br>Sıklığı<br>(adet/m <sup>2</sup> )  | 13,4           | 15,0          | 14,3         | 14,5                          | 16,0             | 16,0             | 16,0             | 16,0    | 15,0   |
| Yem ve Su Tüketimi                             | N              | N             | N            | N                             | N                | N                | N                | N       | N      |
| Havalandırma                                   | Y(+)           | Y(-)          | Y(-)         | Y(-)                          | Y(-)             | Y(-)             | Y(-)             | Y(+)    | Y(+)   |
| Amonyak<br>Düzeyi<br>(ppm)                     | 10             | 30            | 20           | 25                            | 20               | 25               | 25               | 10      | 10     |
| Altlığın Durumu                                | N              | K             | K            | K                             | K                | K                | K                | N       | N      |
| Bir Önceki<br>Dönemde<br>Görülen<br>İnfeksiyon | IBD            | IBD           | IBD          | -                             | IBD<br>ve<br>SHS | IBD<br>ve<br>SHS | IBD<br>ve<br>SHS | -       | SHS    |
| SHS Tablo<br>Öncesi<br>Görülen<br>İnfeksiyon   | -              | Coccidiosis   | IBD          | Omfalitis<br>ve Mantar İnfek. | IBD              | IBD              | -                | IBD     | -      |
| Morbidite (%)                                  | 10,0           | 7,0           | 10,0         | 5,0                           | 15,0             | 12,0             | 15,0             | 8,0     | 2,0    |
| Mortalite (%)                                  | 2,69           | 3,65          | 5,40         | 1,14                          | 7,00             | 5,03             | 5,50             | 4,42    | 1,00   |
| SHS Aşısı<br>Uygulanması                       | -              | -             | -            | -                             | -                | -                | -                | -       | -      |

N: Normal, Y(+): Yeterli, Y(-): Yetersiz, K: Kötü, IBD: Infectious Bursal Disease

Table 3. SHS şüpheli broyler damızlık sürülerin kümes kayıt bilgileri ve yetiştirme koşulları

| Kümes No                                    | 1                | 2          | 3          | 4          | 5              | 6          | 7          |
|---|------------------|------------|------------|------------|----------------|------------|------------|
| İrki  | Avian            | Lohman     | Lohman     | Lohman     | Lohman         | Lohman     | Ross       |
| Yaş (hafta)                                 | 60               | 43         | 49         | 49         | 43             | 49         | 35         |
| Kümes Tipi                                  | Perdeli          | Perdeli    | Perdeli    | Perdeli    | Perdeli        | Perdeli    | Perdeli    |
| Yerleşim Sıklığı*<br>(adet/m <sup>2</sup> ) | 6,5<br>5.2       | 7,0<br>6.3 | 7,0<br>6.0 | 7,0<br>5.3 | 6,5<br>5.0     | 7,0<br>6.0 | 7,0<br>6.0 |
| Yem ve Su Tüketimi                          | Normal           | Normal     | Normal     | Normal     | Normal         | Normal     | Normal     |
| Havalandırma                                | Yeterli          | Yetersiz   | Yeterli    | Yeterli    | Yetersiz       | Yeterli    | Yeterli    |
| Amonyak Düzeyi (ppm)                        | 10               | 20         | 10         | 10         | 20             | 10         | 10         |
| Altlığın Durumu                             | Kötü             | Kötü       | Kötü       | Normal     | Kötü           | Normal     | Kötü       |
| Bir Önceki Dönemde<br>Görülen İnfeksiyon    | -                | SHS        | -          | -          | SHS            | -          | -          |
| SHS Tablosu Öncesi<br>Görülen İnfeksiyon    | Ayak<br>Problemi | Lökozis    | -          | -          | <i>E. coli</i> | -          | -          |
| Morbidite (%)                               | 5,0              | 20,0       | 30,0       | 8,0        | 21,0           | 10,0       | 15,0       |
| Mortalite (%)                               | 2,67             | 10,79      | 20,00      | 2,40       | 12,06          | 4,43       | 8,30       |
| Döl Verim Düşüklüğü (%)                     | -                | 1,5        | 2,0        | -          | 2,0            | -          | 1,0        |
| Yumurta Verim Düşüklüğü (%)                 | 4,0              | 5,0        | 4,2        | 4,0        | 4,3            | 4,7        | 4,2        |
| Yumurta Kabuk Kalitesi                      | -                | -          | -          | -          | -              | -          | -          |
| SHS Aşı Uygulaması                          | -                | -          | -          | -          | -              | -          | -          |

\* İlk değer yumurta verimi başlangıcına kadar olan döneme, ikinci değer yumurta verim dönemine aittir.

Tablo 4. SHS şüpheli broyler ve broyler damızlık sürülerde anti-TRTV antikorları yönünden ELISA sonuçları

| SÜRÜ<br>NO | BROYLER      |                          |                                | BROYLER DAMIZLIK |                          |                                |
|------------|--------------|--------------------------|--------------------------------|------------------|--------------------------|--------------------------------|
|            | Yaş<br>(gün) | Pozitif S./<br>Toplam S. | Anti-TRTV<br>Antikor Oranı (%) | Yaş<br>(hafta)   | Pozitif S./<br>Toplam S. | Anti-TRTV<br>Antikor Oranı (%) |
| 1          | 28           | 13/27                    | 48,1                           | 60               | 18/37                    | 48,6                           |
| 2          | 41           | 12/21                    | 57,1                           | 43               | 2/37                     | 5,4                            |
| 3          | 29           | 17/23                    | 73,9                           | 49               | 1/16                     | 6,2                            |
| 4          | 27           | 7/17                     | 41,1                           | 49               | 2/13                     | 15,3                           |
| 5          | 34           | 25/38                    | 65,7                           | 43               | 8/20                     | 40,0                           |
| 6          | 32           | 41/54                    | 75,9                           | 49               | 3/17                     | 17,6                           |
| 7          | 30           | 21/28                    | 75,0                           | 35               | 15/37                    | 40,5                           |
| 8          | 37           | 7/22                     | 31,8                           |                  |                          |                                |
| 9          | 21           | 0/19                     | 0,0                            |                  |                          |                                |

Tablo 5. Klinik olarak sağlıklı broyler (tavuk) ve hindi sürülerinde anti-TRTV antikorları yönünden ELISA sonuçları

| SÜRÜ NO | BROYLER (TAVUK) |                       |                             | Yetiştirme Tipi | HİNDİ       |                       |                             |
|---------|-----------------|-----------------------|-----------------------------|-----------------|-------------|-----------------------|-----------------------------|
|         | Yaş (gün)       | Pozitif S./ Toplam S. | Anti-TRTV Antikor Oranı (%) |                 | Yaş (hafta) | Pozitif S./ Toplam S. | Anti-TRTV Antikor Oranı (%) |
| 1       | 35              | 0/10                  | 0,0                         | Besi            | 32          | 0/20                  | 0,0                         |
| 2       | 30              | 11/18                 | 61,1                        | Besi            | 34          | 2/10                  | 20,0                        |
| 3       | 29              | 16/20                 | 80,0                        | Besi            | 32          | 6/25                  | 24,0                        |
| 4       | 43              | 1/17                  | 5,8                         | Besi            | 30          | 4/7                   | 57,1                        |
| 5       | 41              | 0/9                   | 0,0                         | Damızlık        | 36          | 0/18                  | 0,0                         |
| 6       | 41              | 2/10                  | 20,0                        | Damızlık        | 37          | 0/19                  | 0,0                         |
| 7       | 45              | 1/13                  | 7,6                         | Damızlık        | 37          | 0/18                  | 0,0                         |
| 8       | 43              | 0/15                  | 0,0                         | Damızlık        | 36          | 0/18                  | 0,0                         |
| 9       | 41              | 1/18                  | 5,5                         | Damızlık        | 37          | 2/19                  | 10,5                        |
| 10      | 30              | 4/7                   | 57,1                        | Damızlık        | 38          | 2/18                  | 11,1                        |

Tablo 6. SHS şüpheli broyler ve broyler damızlık sürülerinde anti-NDV ve anti-IBV antikorları için HI testi sonuçları

| SÜRÜ NO | BROYLER              |                                      |                            |                            | BROYLER DAMIZLIK       |  |                            |                            |
|---------|----------------------|--------------------------------------|----------------------------|----------------------------|------------------------|--|----------------------------|----------------------------|
|         | Örneğin Alındığı Gün | Son ND+IB Aşı* Uygulama Zamanı (gün) | Anti-NDV Antikor Titresi** | Anti-IBV Antikor Titresi** | Örneğin Alındığı Hafta | Son ND+IB Aşı* Uygulama Zamanı (hafta) | Anti-NDV Antikor Titresi** | Anti-IBV Antikor Titresi** |
| 1       | 28                   | 15                                   | 6,71                       | 4,87                       | 60                     | 46(İB),57(ND)                          | 7,80                       | >13,00                     |
| 2       | 41                   | 17                                   | 6,00                       | 6,33                       | 43                     | 35(ND),36(İB)                          | 9,00                       | >13,00                     |
| 3       | 29                   | 17                                   | 4,50                       | 5,00                       | 49                     | 45(ND+İB)                              | 8,50                       | >13,00                     |
| 4       | 27                   | 16                                   | Ç                          | Ç                          | 49                     | 45(ND+İB)                              | 8,60                       | >13,00                     |
| 5       | 34                   | 17                                   | 10,00                      | 8,50                       | 43                     | 35(ND),36(İB)                          | 7,00                       | >13,00                     |
| 6       | 32                   | 17                                   | 7,42                       | 7,75                       | 49                     | 43(ND+İB)                              | 7,80                       | >13,00                     |
| 7       | 32                   | 17                                   | 6,25                       | 5,50                       | 35                     | 21(ND+İB)                              | 7,55                       | Ç                          |
| 8       | 37                   | 17                                   | 6,33                       | >13,00                     |                        |  |                            |                            |
| 9       | 21                   | 12                                   | 4,66                       | 9,14                       |                        |  |                            |                            |

\* Canlı aşı, \*\* Log 2'ye göre düzenlenmiştir Ç: Çalışılmadı

mukozasında, propriyada hiperemi, ödem ve heterofil lökosit infiltrasyonu ile lumende dökülmüş epitel hücreleri, heterofil lökositler ve mukustan oluşan kataral-purulent rinitis görüldü (Şekil 5). Trakheada lezyon saptanan olgularda, propriyada hiperemi, propriya ve lamina epitelyaliste heterofil lökosit infiltrasyonu ile

birlikte lumende kataral-purulent eksudat vardı (Şekil 6). Broiler damızlık sürüden alınan iki olguda meninkslerde hiperemi, ödem ve az sayıda heterofil lökosit infiltrasyonları ile karakterize meningitis purulenta tespit edildi (Şekil 7).

Tablo 7. SHS şüpheli broyler ve broyler damızlık sürülerden izole edilen bakterilerin antibiyotiklere duyarlılık oranları

|     | <i>E. coli</i> (38)* |         |        | <i>S. aureus</i> (6)* |         |        | <i>Staphylococcus</i> spp. (8)* |         |        | <i>Streptococcus</i> spp. (6)* |         |        |
|-----|----------------------|---------|--------|-----------------------|---------|--------|---------------------------------|---------|--------|--------------------------------|---------|--------|
|     | Du (%)               | ODu (%) | Di (%) | Du (%)                | ODu (%) | Di (%) | Du (%)                          | ODu (%) | Di (%) | Du (%)                         | ODu (%) | Di (%) |
| AMP | 47,3                 | -       | 52,6   |                       |         |        |                                 |         |        |                                |         |        |
| APR | 100                  | -       | -      |                       |         |        |                                 |         |        |                                |         |        |
| C   | 28,9                 | 21,0    | 50,0   |                       |         |        |                                 |         |        |                                |         |        |
| K   | 18,4                 | -       | 81,5   |                       |         |        |                                 |         |        |                                |         |        |
| DFX | 26,3                 | 7,89    | 65,7   | 66,6                  | 16,6    | 16,6   | 75,0                            | 25,0    | -      | -                              | 50,0    | 50,0   |
| ENR | 34,2                 | 5,2     | 60,5   | 50,0                  | 33,3    | 16,6   | 75,0                            | 25,0    | -      | -                              | 50,0    | 50,0   |
| NOR | 36,8                 | 5,2     | 57,8   | 50,0                  | 33,3    | 16,6   | 75,0                            | 25,0    | -      | 50,0                           | -       | 50,0   |
| CN  | 60,5                 | 23,6    | 15,7   | 83,3                  | -       | 16,6   | 100                             | -       | -      | -                              | -       | 100    |
| SXT | 15,7                 | -       | 84,2   | 100                   | -       | -      | 100                             | -       | -      | 50,0                           | -       | 50,0   |
| TE  | 44,7                 | 2,6     | 52,6   | -                     | -       | 100    | 62,5                            | -       | 37,5   | -                              | -       | 100    |
| P   |                      |         |        | 83,3                  | -       | 16,6   | 62,5                            | -       | 37,5   | 50,0                           | -       | 50,0   |

\* Antibiyotiğe duyarlılığı test edilen izolat sayısı, Du: duyarlı, ODu: orta duyarlı, Di: dirençli, AMP: ampisilin, APR: apramisin, C: kloramfenikol, DFX: danofloksasin, ENR: enrofloksasin, CN: gentamisin, K: kanamisin, NOR: norfloksasin, P: penisilin G, SXT: sulfametokzol/trimetoprim, TE: tetrasiklin

## Tartışma

TRTV infeksiyonu ilk defa Güney Afrika'da (26), daha sonra Avrupa ve Asya ülkeleri (27) ile Amerika'da (28) hindi ve tavuklarda rapor edilmiştir. Ülkemizde ise, tavuklarda SHS ilk defa Aydın ve ark. (29) tarafından bildirilmiştir. Bu çalışmada, Güney Marmara Bölgesi'nde bulunan tavuk ve hindi işletmeleri iki yıllık periyot boyunca TRTV infeksiyonu yönünden incelendi (Tablo 1) ve 9 adet broyler ile 7 adet broyler damızlık sürüde SHS klinik ve serolojik olarak tespit edildi. Ancak aynı bölgede, aynı süre boyunca gözlem altında tutulan 15 adet hindi işletmesinde, TRT semptomu gösteren sürü tespit edilemedi. TRT, diğer ülkelerde hindi popülasyonunun yoğun olduğu bölgelerde klinik olarak gözlenmiş, özellikle sürü yoğunluğunun fazla olduğu kümeslerde ya da çiftliklerde ciddi kayıplar oluşturmuştur (8). Hindi popülasyonunun az olduğu Tayvan'da klinik TRT vakası bildirilmemiştir (30). Bölgemizde ise aşı uygulanmasına rağmen TRTV infeksiyonunun klinik formunun görülmemesinde, hindi yetiştiriciliğinin yaygın olarak yapılmamasının ve hindi işletmelerinin birbirine yakın olmamasının ayrıca, işletmelerde hindi popülasyonunun az olmasının ve incelenen hindi

işletmelerinin yakınında tavuk yetiştiriciliği yapan işletmelerin bulunmamasının rol oynadığı düşünülmektedir.

Bu çalışmada, SHS olguları 3-6 haftalık broylerlerde tespit edildi. Bu sürülerde, morbiditenin % 2-15, mortalitenin ise % 1-7 olduğu saptandı (Tablo 2). İncelenen kümeslerde literatür bilgileri (2,3,30) ile benzerlik gösteren klinik bulgular tespit edildi. Broyler damızlık sürülerde ise, opistotonus, baş bölgesinde titreme, inkoordinasyon ve bazı sürülerde tortikollis gibi sinirsel semptomlar dikkat çekici idi (Şekil 3). Birçok araştırmacı, SHS'den etkilenen broyler damızlıklardaki esas tablonun sinirsel semptomlar olduğunu bildirmektedir (4,18). Broyler damızlıklarda mortalite, bu çalışmadaki broyler sürülerin ve daha önce bildirilen raporlardaki broyler damızlıklarının (3,31) mortalitelerine göre daha yüksek tespit edildi. Bu yüksek oranda, uygun olmayan diğer yetiştirme koşulları yanı sıra, özellikle kümeslerde yerleşim sıklığının yüksek olmasının etkili olduğu düşünülmektedir (Tablo 3).

TRTV'nun hindi ve tavuklarda oluşturduğu klinik hastalık tablosunun şiddeti ve seyri yetiştirme koşulları ile yakın ilişki içindedir (2,3,5,31). Naylor ve Jones (2) ile



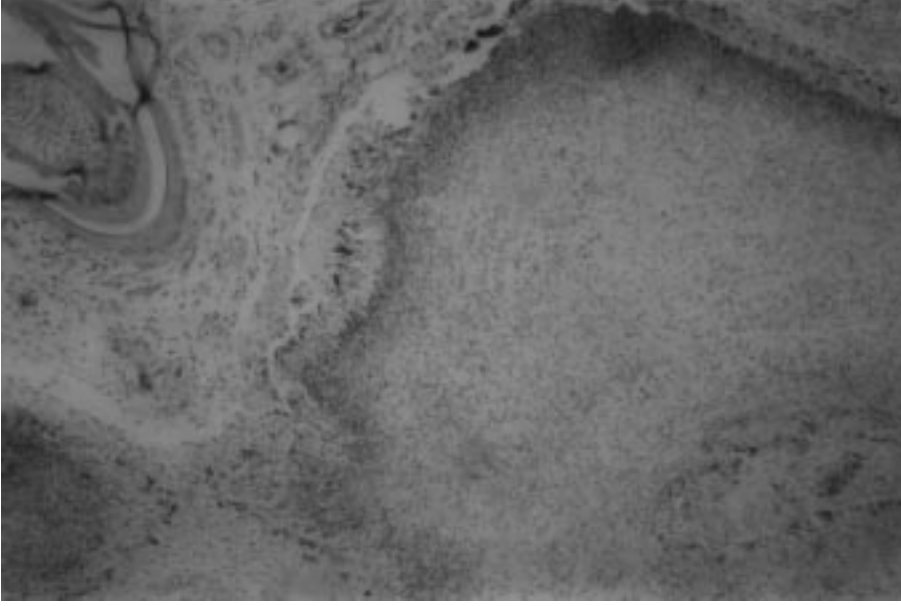
Tablo 8. SHS şüpheli broyler ve broyler damızlıklar sürülerde histopatolojik incelemede tespit edilen lezyonların organlara dağılımı.

| Kümes No<br>(Yetiştirme Tipi) | Örnek<br>Sayısı | Baş<br>(Sub-<br>kutan doku) | Burun | Trachea | Akciğer | Karaciğer | Dalak | Kalp | Böbrek | Beyin | Beyincik |
|-------------------------------|-----------------|-----------------------------|-------|---------|---------|-----------|-------|------|--------|-------|----------|
| 1<br>(Broyler)                | 2               | +                           | +     | -       | -       | -         | +     | !    | !      | !     | !        |
|                               |                 | +                           | +     | -       | -       | +         | -     | -    | !      | !     | !        |
| 2<br>(Broyler)                | 1               | +                           | +     | +       | -       | -         | +     | -    | -      | !     | !        |
| 3<br>(Broyler)                | 3               | +                           | +     | -       | !       | -         | !     | -    | -      | !     | !        |
|                               |                 | +                           | -     | -       | !       | -         | !     | -    | !      | !     | !        |
|                               |                 | +                           | +     | +       | !       | -         | !     | -    | !      | !     | !        |
| 4<br>(Broyler)                | 3               | +                           | +     | -       | !       | -         | !     | !    | !      | !     | !        |
|                               |                 | +                           | +     | -       | !       | -         | !     | !    | !      | !     | !        |
|                               |                 | +                           | -     | -       | -       | !         | !     | -    | !      | !     | !        |
| 5<br>(Broyler)                | 2               | +                           | -     | +       | -       | +         | -     | -    | -      | !     | !        |
|                               |                 | -                           | +     | -       | -       | +         | -     | -    | !      | !     | !        |
| 6<br>(Broyler)                | 2               | +                           | -     | -       | -       | -         | -     | -    | -      | -     | -        |
|                               |                 | +                           | -     | -       | -       | +         | -     | !    | !      | -     | -        |
| 7<br>(Broyler)                | 2               | +                           | -     | +       | +       | -         | -     | -    | !      | !     | !        |
|                               |                 | +                           | -     | -       | -       | -         | -     | -    | !      | !     | !        |
| 8<br>(Broyler)                | 3               | +                           | -     | -       | -       | -         | -     | !    | !      | -     | -        |
|                               |                 | +                           | +     | -       | -       | -         | -     | !    | !      | -     | -        |
|                               |                 | +                           | -     | -       | -       | -         | -     | -    | -      | -     | -        |
| 9<br>(Broyler)                | 3               | +                           | -     | -       | -       | -         | !     | !    | !      | -     | -        |
|                               |                 | +                           | -     | -       | -       | -         | -     | -    | !      | -     | -        |
|                               |                 | +                           | +     | !       | -       | -         | -     | -    | !      | -     | -        |
| 1<br>(Broyler<br>damızlık)    | 2               | +                           | !     | -       | -       | +         | +     | -    | -      | -     | -        |
|                               |                 | +                           | !     | !       | -       | -         | -     | !    | -      | -     | -        |
| 2<br>(Broyler<br>damızlık)    | 2               | +                           | -     | -       | -       | -         | !     | -    | !      | -     | -        |
|                               |                 | +                           | -     | -       | -       | -         | !     | -    | !      | -     | -        |

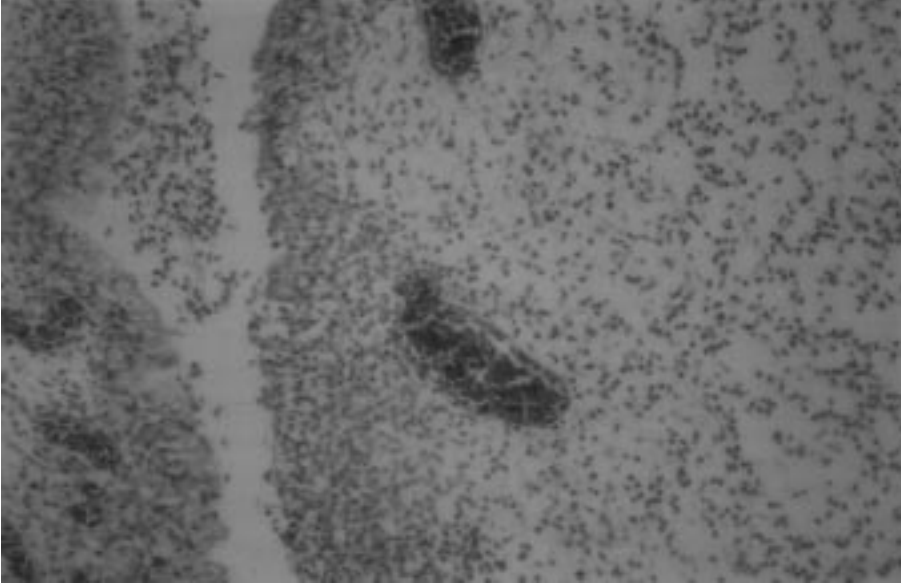
+: lezyon var, -: lezyon yok, !: incelenmedi

Jirjis ve ark. (5) eksperimental koşullarda yeterli şiddette hastalığın oluşturulamamasının nedenini, saha koşullarında mevcut olan yetersiz yetiştirme koşullarının deneysel ortamda sağlanamamasına bağlamışlar ve klinik

hastalık tablosunun oluşumunda yerleşim sıklığı, yetersiz havalandırma, yüksek amonyak düzeyi gibi olumsuz çevre koşullarının önemli rol oynadığını vurgulamışlardır. Bu çalışmada, broyler sürülerde özellikle havalandırmanın



Şekil 4. Deri altı dokusunda granülatöz odak H.E. x 100



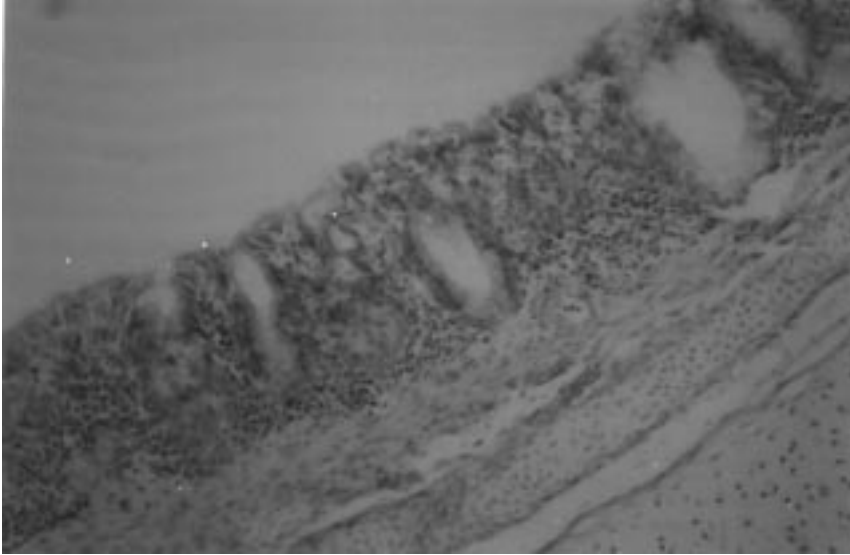
Şekil 5. Kataral-purulent rinitis H.E. x 200

yetersiz, amonyak düzeyinin yüksek ve altlığın kötü olduğu dikkati çekti (Tablo 2). Broyler damızlıklarda ise, özellikle yerleşim sıklığının yüksek ve altlığın kötü, havalandırmanın ise iki kümeste yetersiz ve bu kümeslerde amonyak düzeyinin yüksek olduğu saptandı (Tablo 3).

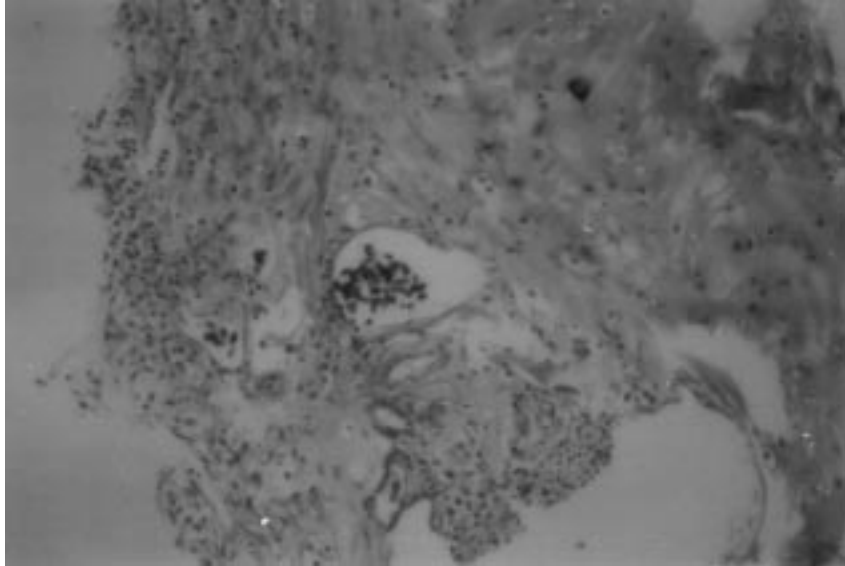
SHS'da, makroskopik lezyonlar genellikle baş bölgesinde lokalize olmaktadır (3,32). Bu çalışmadaki SHS şüpheli sürülerde tespit edilen makroskopik bulgular, lezyonların özellikle baş bölgesinde, nazal boşluk ve

infraorbital sinüslerde lokalize olduğunu, trakheada ve diğer iç organlarda her zaman lezyonların oluşmadığını göstermektedir.

TRTV infeksiyonlarına yönelik serosurvey çalışmalarda ELISA yaygın olarak kullanılmaktadır (12,13,14). Değişik araştırmacılar tarafından, SHS gözlenen broyler ve broyler damızlık sürülerde anti-TRTV antikorlarının varlığı rapor edilmiştir (17,18,30). Bu çalışmada, ticari bir ELISA kiti ile SHS bulguları gözlenen 9 adet broyler sürünün 8'inde % 31,8-75,9 oranlarında, 7 adet broyler damızlık



Şekil 6. Propriya mukoza ve lamina epiteliyaliste heterofil lökosit infiltrasyonu. Trachea H.E. x 200



Şekil 7. Meningitis purulenta. Damarlarda hiperemi ve interstisyumda heterofil lökosit infiltrasyonu H.E. x 200

sürünün tümünde % 5,4-48,6 oranlarında anti-TRTV antikorları tespit edildi (Tablo 4). Dokuz numaralı broyler süründe, SHS klinik bulguları gözlenmesine karşın anti-TRTV antikorları tespit edilemedi. Bu kümes için, üst solunum yollarını etkileyen diğer infeksiyonların varlığı akla gelmektedir. Diğer yandan, infeksiyonun erken döneminde anti-TRTV antikorlarının tespit edilebilir düzeyde olmadığı bildirilmektedir (33). Deneysel TRTV infeksiyonlarında, inokulasyondan sonraki 6. ve 7. günlerde anti-TRTV antikorları saptanmasına karşın (6,19,20), saha infeksiyonlarında pozitif yanıtın, SHS semptomlarının gözlenmesinden 2-6 hafta sonra ortaya

konduğu rapor edilmektedir (17,18). Çalışmada, 9 numaralı kümeste henüz yeterli antikor yanıtı oluşmadan kan serumu örneklerinin alınmasının da negatif antikor yanıtına sebep olabileceği düşünülmektedir.

TRTV'a karşı antikorlar klinik olarak sağlıklı hindi ve tavuk populasyonlarında da bulunmaktadır (14,34,35). Bu çalışmada, 10 adet klinik olarak sağlıklı broyler sürünün 7 adedinde, 4 adet besi hindi sürüsünün 3 adedinde ve 6 adet damızlık hindi sürüsünün 2 adedinde anti-TRTV antikorları saptandı (Tablo 5). Çalışmada, anti-TRTV antikorlarının varlığı yönünden incelenen klinik olarak sağlıklı tavuk ve hindi sürüleri, SHS bulguları

gözlenen tavuk kümeslerine yakın bölgelerden seçildi. TRTV tavuk ve hindilerde diğer viral ve bakteriyel etkenlerin katılımı söz konusu olmadığında subklinik infeksiyon oluşturmaktadır (4,14). Bu nedenle, anti-TRTV antikorları saptanan sağlıklı tavuk ve hindi sürülerinde subklinik infeksiyon varlığı akla gelmektedir.

IBV ve NDV'nun varlığında SHS infeksiyonunun şiddetinin arttığı bildirilmektedir (36). Bu çalışmada, daha önce IB ve ND'e karşı aşılanmış, SHS gözlenen broyler ve broyler damızlık sürülerin serum örneklerinde, HI testi ile NDV ve IBV'na karşı antikor titreleri belirlendi (Tablo 6). Son ND ve IB aşısı uygulama ve örnek alma zamanı dikkate alındığında, 8 numaralı broyler sürüde elde edilen anti-IBV HI antikor yanıtının oldukça yüksek olması ( $> \log_2 13.0$ ), bu kümede aynı zamanda IB infeksiyonunun bulunabileceğini düşündürmektedir. Tüm broyler damızlıkların yüksek titredeki anti-IBV HI antikor titresi ise, üretim periyodu boyunca tekrarlayan IB aşılamalarının yüksek antikor yanıtı oluşturması ile açıklanabilir.

TRTV'nun üst solunum yollarında oluşturduğu lezyonların konakçıyı sekonder patojenlere duyarlı hale getirdiği ve SHS'nda klinik tablonun fırsatçı bakterilerin katılımı sonrası oluştuğuna dair raporlar bulunmaktadır (6,37). Bununla birlikte SHS vakalarından *E. coli* sıklıkla ve genellikle saf olarak izole edilmektedir (26,30,31) ve hastalığın patogenezisinde önemli rolü olduğu bildirilmektedir (6,32,37). Bu çalışmada, bakteriyolojik inceleme yapılan 9 adet broyler ve 2 adet broyler damızlık sürülerin tümünden *E. coli* izole edildi. Bu sonuç, SHS şüpheli bu sürülerde *E. coli*'nin hastalıkla ilişkili olduğu görüşünü desteklemektedir.

TRTV infeksiyonunun spesifik bir sağaltımı yoktur, fakat sekonder bakteriyel infeksiyonların tedavisi amacı ile çeşitli antibiyotikler kullanılmaktadır (3,8). Bu çalışmada, SHS bulguları gözlenen broyler ve broyler damızlıklardan izole edilen bakterilerin değişik antibiyotiklere duyarlılıkları belirlendi (Tablo 7). İzole edilen 38 adet *E. coli* izolatının en yüksek oranda apramisin (% 100) ve gentamisine (% 60.52) duyarlılık

gösterdiği tespit edildi. Sahada sıklıkla kullanılan kinolonlardan; norfloksasin, enrofloksasin ve danofloksasine duyarlılığın sırasıyla % 36.84, % 34.21 ve % 26.31 olduğu saptandı ve bu sonuçlar Genç (38) tarafından, Bursa bölgesinde hastalıklı tavuklardan izole edilen *E. coli* suşlarının bu üç antibiyotiğe karşı duyarlılık sonuçlarıyla (% 88,1) farklılık göstermektedir. Özellikle kinolonlara karşı dirençlilik oranındaki artış dikkat çekicidir.

Tavuklarda TRTV ile yapılan deneysel çalışmalarda özellikle üst solunum yollarında; nasal boşluk, infraorbital sinus ve trakheada histopatolojik lezyonlar oluşmaktadır (6,20,37,39). Bu çalışmada, SHS bulguları gözlenen tavukların büyük çoğunluğunda, baş bölgesi deri altı dokusunda histopatolojik lezyonlar tespit edildi. Bu bölgeden yapılan bakteriyolojik incelemede ise, broyler sürülerde *S. aureus* ve *Staphylococcus* spp. izole edildi. Histopatolojik bulgular genel olarak değerlendirildiğinde, oluşan lezyonların karakteri, dokularda bakteri invazyonunu ortaya koymaktadır. Ayrıca, bu çalışmadaki SHS bulguları gözlenen broyler sürülerde lezyonların özellikle baş bölgesi subkutan dokuda, nasal boşluk ve daha az oranda trakheada şekillendiğini göstermektedir (Tablo 8).

Çalışmanın iki yıllık süresi boyunca, sahada broyler ve broyler damızlık sürülerde klinik SHS vakaları sıklıkla gözlemlendi. Serolojik inceleme sonucunda tavuklarda oldukça yaygın düzeyde anti-TRTV antikorları saptandı. TRT klinik semptomu gösteren hindi sürüsü saptanmamasına karşın, klinik olarak sağlıklı hindi ve tavuk sürülerinde anti-TRTV antikorları ortaya kondu. Çalışmada, tavuklarda SHS tablosunun ortaya çıkmasında yetiştirme koşullarının ve sekonder patojenlerin önemli rolü olduğu gözlemlendi. Bu nedenle hastalıktan korunmada özellikle yetiştirme koşullarına ve sekonder patojenlere yönelik önlemlerin alınması önerilmektedir. Ayrıca, sahada infeksiyonun oldukça yaygın gözlenmesi nedeni ile TRTV infeksiyonuna karşı koruyucu aşılama yönelik çalışmalara önem verilmesi gerekli görülmektedir.

## Kaynaklar

1. Pringle, C.: Virus Taxonomy-1999. The universal system of virus taxonomy, updated to include the new proposals ratified by the International Committee on Taxonomy of Viruses during 1998. Arch. Virol. 1999; 144: 421-429.
2. Naylor, C., Jones, R.: Turkey Rhinotracheitis: a review. Vet. Bull. 1993; 63: 439-449.
3. Hafez, H.: The role of pneumovirus in swollen head syndrome of chickens: review. Arch. Gelflugelk. 1993; 57: 181-185.
4. Pattison, M., Chettle, N., Randal, C., Wyeth, P.: Observation on swollen head syndrome in broiler and broiler breeder chickens. Vet. Rec. 1989; 125: 229-231.

5. Jirjis, F., Noll, S., Halvorson, D., Nagaraja, K., Townsend, E., Sheikh, A., Shaw, D.: Avian pneumovirus infection in Minnesota turkeys: experimental reproduction of the disease. *Avian Dis.* 2000; 44: 222-226.
6. Majo, N., Gibert, X., Vilafranca, M., O'Loan, C., Allan, G., Costa, L., Pages, A., Ramis, A.: Turkey rhinotracheitis virus and *Escherichia coli* experimental infection in chickens: histopathological, immunocytochemical and microbiological study. *Vet. Microbiol.* 1997; 57: 29-40.
7. Cook, J., Ellis, M., Huggins, M.: The pathogenesis of turkey rhinotracheitis virus in turkey poults inoculated with the virus alone or together with two strains of bacteria. *Avian Pathol.* 1991; 20: 155-166.
8. Cook, J.: Avian rhinotracheitis. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 2000; 19 (2): 602-613.
9. Otsuki, K., Hirai, N., Mitani, M., Itani, M., Shimohata, T., Kunii, E., Uramoto, K., Kiyotake, M., Kato, H., Ellis, M., Cook, J.: Demonstration of serum neutralising antibody to turkey rhinotracheitis virus in serum from chicken flocks in Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 1996; 58: 869-874.
10. Baxter-Jones, C., Wilding, G., Grant M.: Immunofluorescence as a potential diagnostic method for turkey rhinotracheitis. *Vet. Rec.* 1986; 119: 600-601.
11. Baxter-Jones, C., Grant, M., Jones, R., Wilding, G.: A comparison of three methods for detecting antibodies to turkey rhinotracheitis virus. *Avian Pathol.* 1989; 18: 91-98.
12. Grant, M., Baxter-Jones, C., Wilding, G.: An enzyme-linked immunosorbent assay for the serodiagnosis of turkey rhinotracheitis infection. *Vet. Rec.* 1987; 120: 279-280.
13. Chiang, S., Dar, A., Goyal, S., Sheikh, M., Pedersan, J., Panigrahy, B., Senne, D., Halvorson, D., Nagaraja, K., Kapur, V.: A modified enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of avian pneumovirus antibodies. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 2000; 12: 381-384.
14. Chettle, N., Wyeth, P.: Turkey Rhinotracheitis: detection of antibodies using an ELISA test. *Br. Vet. J.* 1988; 144: 282-287.
15. Jones, R., Williams, R., Baxter-Jones, C., Savage, C., Wilding, G.: Experimental infection of laying turkeys with rhinotracheitis virus: distribution of virus in the tissues and serological response. *Avian Pathol.* 1988; 17: 841-850.
16. Pollan, V., Hafez, H., Vasicek, L.: Rhinotracheitis bei Puten in Österreich. *Wien. Tierarztl. Mschr.* 1992; 79: 70-74.
17. Maharaj, S., Thomson, D., Graca, J.: Isolation of an avian pneumovirus-like agent from broiler breeder chickens in South Africa. *Vet. Rec.* 1994; 134: 525-526.
18. Wyeth, P., Chettle, N., Gough, R., Collins, M.: Antibodies to TRT in chickens with swollen head syndrome. *Vet. Rec.* 1987; 120: 286-287.
19. Khehra, R., Jones, R.: In vitro and in vivo studies on the pathogenicity of avian pneumovirus for the chicken oviduct. *Avian Pathol.* 1999; 28: 257-262.
20. Majo, N., Allan, G., O'Loan, C., Pages, A., Ramis, A.: A sequential histopathologic and immunocytochemical study of chickens, turkey poults and broiler breeders experimentally infected with turkey rhinotracheitis virus. *Avian Dis.* 1995; 39: 887-896.
21. Avisure Art Avian Rhinotracheitis. Vetequinol SA, BP 189 70204 Lure Cedex, France, 1999.
22. Beard, C.: Serologic procedures. *A Laboratory Manual for the Isolation and Identification of Avian Pathogens*, 3<sup>rd</sup> edition, Kendall/Hunt Publishing Co., Iowa, USA, page 192-200, 1989.
23. Koneman, E., Allen, S., Janda, W., Schreckenberger, P., Winn, W.: *Color atlas and textbook of diagnostic microbiology*, 4<sup>th</sup> edition, J.B. Lippincott Com., Pennsylvania, USA, 1992.
24. Jorgensen, J., Cleeland, R., Craig, W., Doern, G., Ferraro, M., Finegold, S., Hansen, S., Jenkins, S., Novick, W., Pfaller, M., Preston, D., Reller, L., Swenson, J.: *National Committee for clinical laboratory standards, performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests*, 5<sup>th</sup> edition, NCCLS document M2-A5, Pennsylvania, USA, 1993.
25. Luna, L.: *Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology*. McGraw-Hill Book Comp., New York, USA, 1968.
26. Buys, S., Du Preez, J., Els, H.: Swollen Head Syndrome in Chickens: a preliminary report on the isolation of a possible aetiological agent. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 1989; 60: 221-222.
27. Jones, R.: Avian pneumovirus infection: questions still unanswered. *Avian Pathol.* 1996; 25: 639-648.
28. Cook, J., Huggins, M., Orbell, S., Senne, D.: Preliminary antigenic characterization of an avian pneumovirus isolated from commercial turkey in Colorado, USA. *Avian Pathol.* 1999; 28: 607-617.
29. Aydın, N., Akan, M., Erdeğer, J.: Ankara ve çevresinde swollen head syndrome (şişkin baş sendromu) olguları üzerinde bir çalışma. *Etik Vet. Mik. Derg.* 1993; 7: 24-33.
30. Lu, Y., Shien, Y., Tsai, H., Tseng, C., Lee, S., Lin, D.: Swollen head syndrome in Taiwan-isolation of an avian pneumovirus and serological survey. *Avian Pathol.* 1994; 23: 169-174.
31. O'Brien, J.: Swollen head syndrome in broiler breeders. *Vet. Rec.* 1985; 117: 619-620.
32. Nakamura, K., Mase, M., Tanimura, N., Yamaguchi, S., Nakazawa, M., Yuasa, N.: Swollen head syndrome in broiler chickens in Japan: its pathology, microbiology and biochemistry. *Avian Pathol.* 1997; 26: 139-154.
33. O'Loan C., Allan, G., Baxter-Jones, C., McNulty, M.: An improved ELISA and serum neutralisation test for the detection of turkey rhinotracheitis virus antibodies. *J. Virol. Methods.* 1989; 25: 271-282.
34. Toro, H., Hidalgo, H., Ibanez, M., Hafez, H.: Serologic evidence of pneumovirus in Chile. *Avian Dis.* 1998; 42: 815-817.
35. Tanaka, M., Kokumai, N., Obi, T., Higashihara, R., Takuma, H., Hiramatsu, K., Shimizu, Y.: A serological survey of turkey rhinotracheitis virus infection in chicken in Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 1996; 58: 689-691.

36. Panigrahy, B., Senne, D., Pedersen, J., Gidlewski, T., Edson, R.: Experimental and serologic observations on avian pneumovirus (APV/ turkey/ Colorado/ 97) infection in turkeys. *Avian Dis.* 2000; 44: 17-22.
37. Catelli, E., Cook, J., Chesher, J., Orbel, S., Woods, M., Baxendale, W., Huggins, M.: The use of virus isolation, histopathology and immunoperoxidase techniques to study the dissemination of a chicken isolate of avian pneumovirus in chickens. *Avian Pathol.* 1998; 27: 632-640.
38. Genç, A.: Sağlıklı ve hastalıklı tavuklardan izole edilen *E. coli* suşlarının bazı patojenite özelliklerinin, somatik O antijenlerinin ve antibiyotik duyarlılıklarının karşılaştırılması olarak incelenmesi. *Veterinarium* 1997; 8: 65-77.
39. Majo, N., Marti, M., O'Loan, C., Allan, G., Pages, A., Ramis, A.: Ultrastructural study of turkey rhinotracheitis virus infection in turbinates of experimentally infected chickens. *Vet. Microbiol.* 1996; 52: 37-48.