

**BURSA YÖRESİ TAVUKLARINDA GÖRÜLEN MAREK HASTALIĞININ
TEŞHİSİNDE, DERİ VE İÇ ORGAN BULGULARI ÜZERİNDE FLORESAN
ANTİKOR (FA) VE HİSTOLOJİK YÖNTEMLER KULLANARAK YAPILAN
ARAŞTIRMALAR¹**

Osman Kutsal²

(Studies on the skin and visceral organ findings of Marek's Disease diagnosis in chickens by using Fluorescent Antibody (FA) and histological methods in Bursa region)

Summary: *In this study, the diagnosis of the skin and visceral organ findings which observed in spontaneous cases of Marek's Disease was comparatively investigated by the histopathological and immunofluorescence methods in chickens.*

Eighty chickens with Marek's Disease were used and microscopic findings of the skin, ischiadic nerve, bursa of Fabricius and visceral organs were typical for the disease. It was determined that immunofluorescence method was more confident than histopathological method in differential and early diagnosis of the disease.

According to the results:

1. *Lymphocyte infiltrations, sometimes plasma cells and heterophils were seen in the dermis, especially beneath the epidermis and around the feather follicles, in 61 cases.*

2. *In 58 cases, edema, middle and small lymphocytes, lymphoblasts, plasma cells and very few histiocytes were seen in ischiadic nerves. "Marek's Disease Cells" were found in 20 cases.*

3. *In 48 cases, the decrease in cells of lymphoid follicles, necrosis and cyst formations together with the increase connective tissue cells in stroma and interfollicular lymphoid infiltrations in bursa of Fabricius stress the importance of this organ in the diagnosis.*

4. *Twenty-nine chickens were examined with the indirect immunofluorescence method and intracytoplasmic viral antigens were seen in*

¹ Bu çalışma aynı adlı doktora tezinden özetlenmiştir (1987).

² Dr., AÜ Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı. Ankara.

all of the impressed slides prepared from the bone marrow. In the tissue sections taken from some of these 29 chickens, intracytoplasmic viral antigens were seen in lesser degree.

Özet. *Bu çalışmada spontan olaylarda Marek Hastalığının piliçlerde oluşturduğu deri ve iç organ bulgularının histopatolojik ve immunfloresan yöntemlerle karşılaştırmalı olarak teşhisi incelenmiştir. Seksen adet Marek Hastalıklı piliç kullanılan çalışmada hastalığın diaagnozunda deri, n. ischiadicus, bursa Fabricii ve iç organlarda oluşan histopatolojik bulguların hastalık için karakteristik olduğu gözlenmiştir. Immunfloresan yöntemin hastalığın erken ve ayırıcı tanısında histopatolojik yöntemlere göre daha güvenilir sonuç verdiği saptanmıştır.*

Alınan sonuçlara göre:

1. *Çalışmada 61 olayda deride çok katlı yassı epitel altında ve tüy follikülleri çevresinde lenfosit toplulukları, bazen plazma hücreleri ve heterofiller görülmüştür. Tüy follikül epitelinde intranükleer inklüzyon cisimcikleri hiçbir olguda saptanamamıştır.*

2. *N. ischiadicus'larda 58 olayda ödem, orta ve küçük boyutlardaki lenfositler, lenfoblastlar, plazma hücreleri ve oldukça seyrek olarak histiyositler gözlenmiştir. Ayrıca 20 olguda Marek Hastalığı Hücreleri tesbit edilmiştir.*

3. *Bursa Fabricii'lerde 48 olayda lenfoidi folliküllerde hücre azalması, nekroz ve kist oluşumuyla stromada bağ dokusu hücresi artımı ile interfolliküler lenfoid hücre infiltrasyonu görülmesi bu organın hastalığın diaagnozundaki önemini vurgulamaktadır.*

4. *İmmunfluoresan metotla teşhiste, indirekt immunfloresan yöntemi kullanılarak 80 adet Marek Hastalıklı piliçten 29 adedine ait kemik iliklerinden hazırlanan tuşe preparatların hepsinde ve kemik iliği hücrelerinin birçoğunda intrasitoplazmik viral antijen tesbit edilmiştir. Bu 29 piliçin bazılarında alınan doku örneklerinin kesitlerinde ise, kemik iliğine göre daha az sayıdaki hücrede intrasitoplazmik viral antijenin varlığı saptanmıştır.*

Giriş

Marek Hastalığı üzerinde yapılan araştırmalar, özellikle son 30 yıl içinde belirli bir şekilde yoğunlaşma göstermiştir. Hastalığın genç piliçlerde seyretmesi halinde kaşeksiye ve yüksek oranda mortaliteye sebep olması, klinik semptomların riboflavin noksanlığı, encephalom-

yelitis, A ve E vitaminleri noksanlıkları ile staphylococ infeksiyonları gibi hastalıkların klinik semptomlarıyla karışması, bu hastalığın önemini daha da artırmakta olup, önceleri kanatlıların Leukosis kompleksi adıyla incelenen hastalıklardan en önemlisinin ve üzerinde en çok çalışılan ve tartışılan tavuk hastalığının Marek Hastalığı olduğunu göstermiştir (2, 8, 22).

Yurdumuzda da Marek Hastalığı yıllardan beri bilinmektedir. Ancak kesim sonu muayenelerde imha edilen tavukların ve özel işletmeler ile halk elindeki tavuklarda Marek Hastalığı sonu ölen hayvan sayılarına ait istatistik bilgileri olmadığından, hastalığın sebep olduğu ekonomik kayıpları tam olarak saptamak mümkün olamamaktadır. Fakat her geçen gün tavuk yetiştiriciliğinin endüstrileşme çabası içinde olduğu yurdumuzda da bu hastalığın büyük ekonomik kayıplara neden olduğu ortaya konmuştur (4, 5, 22).

Bu nedenle ülkemiz tavukçuluğuna ve tavuk yetiştiriciliğine ışık tutmak için, özellikle Bursa İli ve çevresinde yoğunluk kazanan tavuk çiftliklerinde Marek Hastalığında histopatolojik teşhisin yanısıra, son yıllarda bütün dünyada hastalıkların erken teşhisinde rutin olarak kullanılmaya başlanan FA tekniğinin bu hastalıkta yurdumuzda ilk kez uygulanmasını amaçlayan bu çalışmayı yapmayı uygun bulduk.

Yapılan araştırmalar Marek Hastalığının etyolojik yönden kanatlı Leukosis'inden ayrı olduğunu göstermektedir (2, 5, 8, 18, 28). Marek Hastalığının etkeni Herpes grubundan, zarflı, DNA kapsayan bir virustur. Oysaki kanatlı Leukosis'inin etkeni Retrovirus grubundan RNA kapsayan bir virustur (8).

Marek Hastalığında klinik semptomlar infeksiyondan etkilenen sinirlerde ve sinirlerdeki bozuklukların şiddetine bağlı olarak ortaya çıkar. Vücuttaki bütün sinirler infeksiyona karşı duyarlıdır (2, 3, 6, 16, 34). Genellikle dikkati çeken klinik semptomlar bacak sinirlerinin (plexus ve nervus ischiadicus'lar) etkilenmesiyle belirgin hale gelir (2, 3, 5, 13, 37). Ancak bacak sinirlerinin etkilenmesi durumunda başlangıçta hayvanlar normal görünürlerse de dikkatli bir inceleme ile parmakların içe doğru kıvrılmış oldukları gözlenebilir. Böyle durumdaki hayvanlar koşmaya zorlanacak olursa, yürüyüşlerindeki düzensizlik (inkoordinasyon) dikkati çeker (5, 8). Hastalık ilerledikçe bacaklardaki asimetri, giderek ilerleyen paresis ve sonra da bir yada her iki bacağın paraliz oluşu gözlenir (37). Hasta hayvanların hareketleri güçleşir. Çoğu zaman göğüsü üzerine yatar ve kalkamaz. Bacak sinirleri etkilenen tavuklar, bacağın tek taraflı parezisi veya paralizi ne-

deniyle bir bacağı öne diğerini arkaya uzatırlar (8). Bu oturuş şekli (balerin oturuşu) Marek Hastalıklı tavuklar için oldukça karakteristiktir (2, 5, 8).

Deride ise olayların çoğunda hücre infiltrasyonları nedeniyle tüy folliküllerinin büyüyerek belirginleşmesi şeklinde görülebildiği gibi, dermatit ve belirgin büyüklükte tümöral kitleler şeklinde de görülebilir (2, 4, 18). Ancak bu bulgular genellikle kesim sırasında ve tüylerin yolunmasından sonra fark edilebilmekteyse de, çok katlı yassı epitelin bulunduğu tüsüz veya ince tüyler bulduran deri kısımları olan ibik, sakal ve gerdanın soluk bir renk alması, özellikle ibiklerin şişkin bir hal alması ile birlikte bu bölgede ekzamatöz deri lezyonlarının da görülebildiği yapılan deneysel araştırmalarla açıklanmaktadır (2, 15, 24). Yalnız ibik lezyonlarının saha olgularında ve 30 haftalık tavuklarda görülmediği de kaydedilmektedir (15).

Marek Hastalığında etkilenen sinirlerin makroskopik görünümleri karakteristiktir. Özellikle infeksiyonun ilerlemiş devrelerinde böyle sinirlerin sedef görünüşündeki parlaklıklarını kaybettikleri ve sarımsı veya grimsi bir renk aldıkları, normalde görünen enine çizgililiğin kaybolduğu, ödemli görünüşte olduğu ve bazen normalin birkaç katına dahi ulaşabilen kalınlaşmaların dikkati çekeceği bildirilmektedir (3, 8, 14, 16, 27, 34, 37). Hasta tavuklarda makroskopik lezyonların özellikle plexus ischiadicus'larda görüldüğü bildirilmekteyse de yapılan çalışmalar klinik olarak paraliz görülen tavukların otopsilerinde hem plexus ve hem de n. ischiadicus'ta kalınlaşmanın hemen göze çarpacak derecede belirgin olabileceğini göstermiştir (13, 16).

Marek Hastalığında saptanabilen makroskopik değişikliklerin hemen en önemlisi bursa Fabricii'de görülür. Yalnızca iç organlarda görülen değişiklikler çoğunlukla kanatlı Leukosis'inde de görülebilen tabloya benzerlik gösterdiğinden, ayırıcı tanıda en önemli organ özelliğini taşımaktadır (19). Marek Hastalığında bursa Fabricii ya atrofik ya da ender olarak hücre infiltrasyonunun interfolliküler dağılımı neticesinde yaygın bir kalınlaşma ile beliren tümör sonu diffuz bir büyüme söz konusudur (6, 19). Oysaki kanatlı Leukosis'inde bursa Fabricii'deki lezyonlar; nodüler, hücrel infiltrasyonun intrafolliküler yerleşimi sonu tümör karakteri kazanmakta ve hayvan canlı iken bile palpasyonla hissedilebilecek derecede belirgin olmaktadır (6, 19, 37).

İç organlarda teşekkül eden lenfoid tümörler daha çok gonadlarda, özellikle de yumurtalıklarda yerleşir (11, 12, 14, 22—24, 33). İç

organlardaki lenfomatöz değişiklikler yumurtalıklardan başka bezsel mide, musküler mide, bağırsak, mezenteriyum, karaciğer, pankreas, dalak, kalp, akciğer, böbrek, adrenal korteks'te de görülebileceği bildirilmektedir (8, 12, 13, 22—24, 28).

Mikroskopik bulguların değerlendirilmesi uzun yıllar tartışma konusu olmuştur. Bazı yazarlar histopatolojik bulguları bir yangı tablosu olarak değerlendirirken, diğer bir grup bunların tümör tabiatında olduğunu ileri sürmüşlerdir. Ancak Marek Hastalığına yakalanan tavuklarda hem tümöral ve hem de yangı sonucu gelişmiş bulgular görülmektedir (8).

Lezyonlar deride mikroskopik olarak tüy follikülleri çevresinde şekillenmiş yangı tabiatındadır. Tüy follikülleri çevresinde yoğun, yaygın ve topluluklar halinde ve bazen de perivasküler olarak birikim gösteren lenfosit, lenfoblast ve az sayıda plazma hücreleri ile histiyositler seçilebilir (8, 18, 22, 24). Deride yine tüy follikül epitel hücrelerinde, herpes virusların tipik özelliklerinden olan, açık bir sınır ile nükleolus ve nüklear membrandan ayrılmış, eosinofilik görünüşte intranükleer inklüzyon cisimciklerinin bulunduğu bildirilmektedir (25, 31).

Periper sinirlerdeki lezyonların genel tablosu az veya çok mononükleer hücre infiltrasyonu, bazı olaylarda ödem, myelin dejenerasyonu ve Schwann hücre proliferasyonu ile karakterizedir. Yalnız axon dejenerasyonu nadiren görülebilir (3, 5, 8, 18, 22, 27).

Genel olarak lezyonlarda saptanabilen hücreler; değişik tiplerdeki -büyük, orta ve küçük boyutlardaki- lenfosit, lenfoblast ile plazma hücreleridir. Bazı olaylarda az sayıda makrofajlar da görülebilir (3, 14, 17, 37). Perifer sinir lezyonlarında bulunabilen bazofilik, piro-ninofilik ve çoğunlukla sitoplazmasında vakuoller içeren, değişik yapısı ile diğer hücrelerden farklı bulunan hücre tipi "Marek Hastalığı Hücresi" (Marek's Disease Cell) olarak isimlendirilmektedir (8).

Marek Hastalığının teşhisinde immunfloresan metodu giderek önem kazanmaktadır. İlk kez Kottaridis ve Luginbuhl (21) 1967 yılında, Marek Hastalıklı piliçlerin kemik iliklerinden hazırladıkları materyalin leighton tüpler içinde Chick Embryo Fibroblast (CEF) doku kültürlerine ekilmesi ve böyle kültürlerin tavşandan elde edilen anti-Marek's Disease virus serumu ile konjuge edilmiş FITC'li konjugat ile ve yine aynı araştırmada araştırmacılar kemik iliğinden hazırladıkları sürme preparatlarda immunfloresan çalışmalar yaptıklarını

bildirmiştir. Daha sonra da Purchase (30), Purchase ve Burgoyne (32), Spencer ve Calnek (35), Nazerian ve Purchase (26), Ahmed ve ark. (1), Purchase (31), Yachida ve ark. (36) aynı metodla doku kültürü çalışmalarından; Calnek ve ark. (7) ise tüy follükül epitellerindeki çalışmalarından başarılı sonuçlar almışlardır.

Ayrıca Mohanty ve ark. (24) 1975 yılında karakteristik Marek Hastalığı bulguları gösteren 12—24 haftalık piliçlerin ibik, sakal ve incik derisiyle yaptıkları immunfloresan çalışmalarda viral antijeni bu bölgelerde epidermiste kornifiye tabaka altındaki epitel hücrelerinde sınırlı olarak saptanabildiğini bildirmişlerdir. Bundan başka Ekperigin ve ark. (11) ile Glünder ve ark. (15) da gerek saha ve gerekse deneysel çalışmalarda başarılı sonuçlar almışlardır.

İlk kez 1941—1942 yıllarında yaptıkları çalışmalarla Coons ve ark. tarafından geliştirilen bu metot, bugün immunpatolojiden hormon teşhisine kadar geniş kullanım sahası bulmakta ve özellikle hastalıkların teşhisinde önemli bir yer almaktadır (20, 29).

Çeşitli immunfloresan metotları arasında en çok kullanılan indirekt ve direkt immunfloresan metotlarıdır (20).

Materyal ve Metot

Marek Hastalığının klinik semptomlarını gösteren, Bursa İli ve çevresi tavuk çiftliklerinden 3.5—10 aylık olmak üzere toplam 80 adet Studler, Babcock B-380 ve Hisex ırkı piliç canlı olarak laboratuvarımıza getirildi. Daha sonra otopsileri yapılarak hem histopatolojik ve hem de immunfloresan incelemeler için deri, n. ischiadicus, bursa Fabricii ve diğer iç organlar ile piliçlerin femurlarından kemik iliği örnekleri alındı.

Otopsileri yapılan piliçlerden alınan tümörlü organ örnekleri % 10'luk tamponlu formalinde tespit edilip, parafin bloklarından hazırlanan 5—6 μ kalınlığında kesitler Hematoxylin-Eosin, Phloxine-Tartrazine (10) ve Methyl green-Pyronin (9, 10) boyama yöntemlerine göre boyanmıştır.

İmmunfloresan incelemeler için taze olarak çeşitli organlardan alınan yaklaşık 3 mm kalınlığındaki örnekler alüminyum kağıt üzerine alınarak sıvı nitrojende (-196°C) hemen donduruldu (20, 29). Ayrıca

piliçlerin femurlarından alınan kemik iliklerinden, eter-alkolde (1:1) temizlenmiş lamlara tuşe preparatlar hazırlandı (21). Her iki şekilde elde edilen örnekler kullanılıncaya kadar -30°C 'lik deep-freez'de saklandı.

Hastalığı immunhistolojik olarak tanımlamak amacıyla indirekt immunfloresan yöntemi kullanılan bu çalışmada gerek organların -20°C ila -30°C arasındaki cryostat veya dondurma mikrotomuyla $4-5\ \mu$ kalınlığında kesilip, eter-alkolde (1:1) temizlenmiş lamlara alınan doku örnekleri, gerekse tuşe preparatlar üzerindeki kemik iliği örnekleri 20 dakika ılık hava akımında kurutuldu. Soğuk asetonda ($+4^{\circ}\text{C}$) 5 dakika fikse edildi ve sonra tekrar 20 dakika aynı şekilde kurutulup Phosphate Buffered Saline (PBS) (pH: 7.4) ile 5'er dakika süreyle 3 defa yıkandı ve preparatlar üzerindeki doku çevresi temiz bir bezle silinip nemli kameralara yerleştirildi.

Bu şekilde hazırlanan preparatlar üzerine doku yüzeyini kaplayacak şekilde 1 / 10 oranında PBS ile sulandırılmış anti-Marek's Disease serum'undan (hiperimmun serum-Etik Hayvan Hastalıkları Araştırma Enstitüsü, Marek Teşhis Laboratuvarından temin edilmiştir) 2 damla damlatılıp 37°C etüvde 30 dakika birinci inkübasyonda tutuldu.

Bundan sonra yeniden 5'er dakika süreyle 3 defa PBS ile yıkanan preparatlar tekrar nemli kameralara yerleştirildi ve üzerine 1 / 10 oranına PBS ile sulandırılmış, tavşandan tavuk immunglobulin, G (IgG)'lerine karşı elde edilmiş ve Fluoresceinisothiocyanat (FITC) ile konjuge edilmiş anti serumdan (Rabbit anti-chicken IgG-FITC konjugatı; Miles Scientific, Division of Miles Laboratories, Inc.'den temin edildi) 2 damla damlatılıp 37°C etüvde ikinci inkübasyona bırakıldı.

İkinci inkübasyondan sonra yine 5'er dakika süreyle 3 defa PBS ile yıkanan preparatlar üzerine gliserin + PBS (9 kısım + 1 kısım) (pH: 7.4) karışımından 1 damla damlatılıp lamel kapatıldı ve kenarları erimiş parafinle kaplanıp immunfloresan mikroskopta (Leitz, Laborlux, Tip D, Üstten ışıklandırma, Karanlık sahalı, 1 2 filtre sistemli, Yüksek cıva basınç buhar lambalı) incelendi.

Kontrol için aynı yöntemle hazırlanan preparatlar gerek PBS ve gerekse testte kullanılan konjugat damlatılıp aynı işlemlere tabi tutularak, doku ve konjugattan ileri gelebilecek spesifik olmayan boyamalar elimine edildi.

Ayrıca serum ve konjugat değişik sulandırma derecelerinde aynı pozitif bir doku ile denenerek, çalışmadaki indirekt immunfloresan yönteminde serum ve konjugat sulandırılması için 1 / 10 sulandırma seçildi.

Bulgular

Piliçlerde Marek Hastalığında şekillenen klinik bulgular ile makroskobik, mikroskobik ve immunfloresan bulgular aşağıda açıklanmıştır.

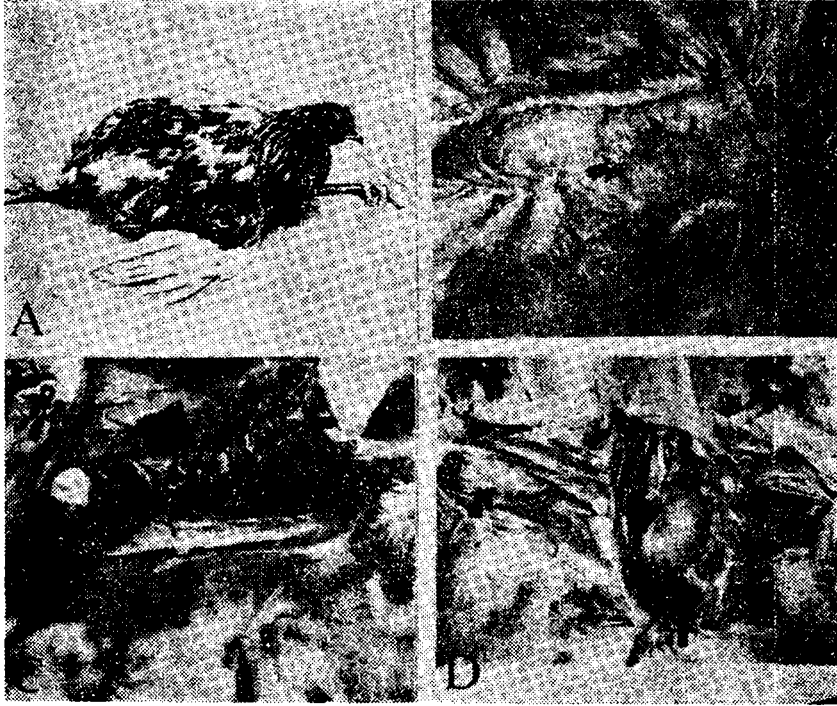
Klinik Bulgular: Bursa İli ve çevresinde yoğunluk kazanmış değişik kapasitedeki tavuk çiftliklerinden alınan piliçlerde Marek Hastalığına belge farklı klinik semptomlar gözlemlendi (Tablo 1).

Tablo 1. Marek Hastalığının Teşhisinde Klinik Bulguların Görülme Sıklığı

Tipik Klinik Bulgular	Bulguların Görülme Sıklığı (80 Piliçte)	%
Asimetrik Paresis	22	27.5
Paraliz	36	45
Yürüyüşte Düzensizlik (İnkoordinasyon)	22	27.5
Parmakların İçer Kıvrık Durumu	40	50
Kanatların Düşmesi	15	18.75
Balerin Oturusu	4	5
Tortikollis	4	5

Genel olarak dikkati çeken klinik bulgular; bacaklarda asimetrik paresis, paraliz, koordinasyon bozukluğu, bir bacağın öne diğer bacağın arkaya uzatılmasıyla şekillenen özel oturuş şekli (balerin oturuşu), ayak parmaklarının içe kıvrılmış hali, kanat uçlarının aşağı doğru sarkması şeklindeydi (Şekil 1A). Ayrıca bazılarının başlarını aşağı doğru tuttukları ve bazılarında da tortikollis olduğu görüldü. Genel olarak besi durumları oldukça zayıftı ve bazılarında da ishal gibi tipik olmayan klinik semptomlar saptandı.

Makroskobik Bulgular: Marek Hastalığının klinik bulgularını gösteren piliçlerin yapılan otopsilerinde ise makroskobik bulgular hayvandan hayvana farklılık göstermekteydi (Tablo 2).



Şekil 1. A. Marek hastalıklı piliçin görünümü. 253 / 86. (The appearance of the chicken affected with Marek's Disease). B. Bir piliçin göğüs bölgesinde deri altında tümöral kiteller (oklar). 254 / 86. (Tumours under the skin of breast area of a chicken (arrows)). C. N. ischiadicus'taki kalınlaşma. 255 / 86. (Marked enlargement of ischiadic nerve). D. Sol böbrek ile sağ bacakta m. pubischiofemorales'te tümöral oluşumların görünüşleri (oklar). 258 / 86. (Gross appearance of tumours in left kidney and m. pubischiofemorales of right leg (arrows)).

Deride aşırı gelişmiş belirgin tümöral kiteller, bazı olgularda $3 \times 4.5 \times 1.5$ cm boyutlarına kadar ulaşabilen ve çoğunlukla sternum üzerindeki deri kısımlarında görüldü (Şekil 1B). Yine birkaç olguda ibiklerde şişkin görünüm yanında ekzematöz deri lezyonları da dikkati çekti.

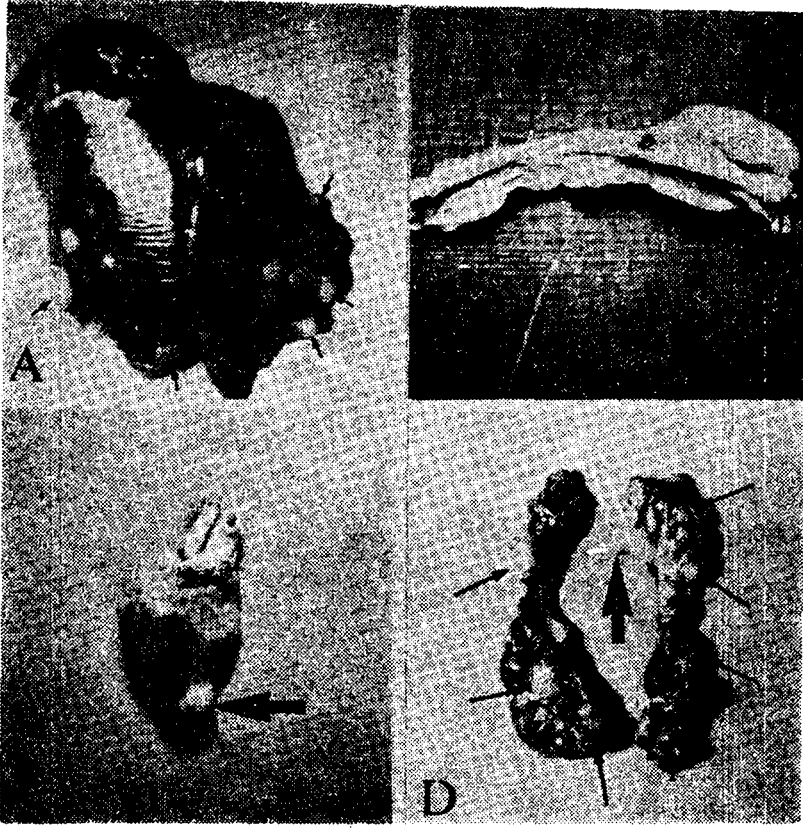
Marek Hastalığından etkilenen piliçlerin plexus ve nervus ischiadicus'larının görünüşleri karakteristikti. Hastalıklı piliçlerde saptanan n. ischiadicus'ların parlaklıklarını kaybettikleri, sarımsı bir renk aldıkları, enine çizgiliğin kaybolduğu ve normalden birkaç kat kalın görünümde oldukları gözlemlendi (Şekil 1C).

Tablo 2. Marek Hastalığında Otopside Deri ve İç Organlardaki Makroskopik Bulguların Görüldüğü Olguların Sayısı

Makroskopik Bulguların Görüldüğü Organlar	Olguların Sayısı (80 Piliçte)	%
Deri	15	18.75
N. İshadicus	22	27.5
Bursa Fabricii	21	26.25
İç Organlar		
Bezsel mide	12	15
Musküler mide	1	1.25
İnce bağırsak	4	5
Karaciğer	17	21.25
Pankreas	1	1.25
Dalak	21	26.25
Kalp	6	7.5
Akciğer	7	8.75
Yumurtalık	13	16.25
Böbrek	26	32.5
İskelet Kası		
m. pectoralis'in pars thoracicus'u	5	6.25
m. pubischiiofemorales	12	15
Herhangi bir patolojik bulguya rastlanılmayan	12	15

İç organlarda gelişen makroskopik bulguların infeksiyonun şiddetine göre değiştiği, ancak bazı olgularda Marek Hastalığı klinik bulguları bulunduğu halde otopsilerde herhangi bir patolojik bulgunun şekillenmediği de gözlemlendi.

İç organlarda lenfoid tümörlerin gelişmesi nedeniyle organların normal boyutlarının birkaç katına kadar büyüdükleri, solgun bir görünüm aldıkları, tek veya çok sayıda irili-ufaklı multiple tümöral odakların oluştuğu görüldü (Şekil 1D, 2). Bezsel mide mukozasının ödemli, sert, şişkin görünüşte olduğu, mukoza üzerinden de seçilebilen nodüler alanları içerdiği; musküler mide kas tabakası üzerinde oldukça büyümüş tümöral bir kitlenin geliştiği; ince bağırsak duvarı üzerinde çeşitli büyüklükte tümöral kitlelerin şekillendiği; genel olarak karaciğerin büyüdüğü ve çeşitli büyüklükte tümör odakları gösterdiği (Şekil 2A); pankreasta ise bir olguda $1.5 \times 2 \times 1$ cm boyutuna kadar varabilmiş tümöral kitlenin geliştiği (Şekil 2B); dalağın bazı olgularda oldukça büyümüş ve yüzeyi üzerinde toplu iğne başı büyüklükte beyazımtırak renkte odakların oluştuğu; kalbin solgun bir görünüm aldığı ve genellikle apexine yakın nodüler yapıda tümörlerin şekillendiği (Şekil 2C); akciğerlerin solgun beyazımtırak bir renkte ve sert kıvamda oldukları; yumurtalıkların gelişen tümöral oluşumlar nedeniyle büyüdükleri (Şekil 2D); böbreklerin de normalden birkaç misline kadar büyüdük-



Şekil 2. Marek hastalığında iç organlarda şekillenen makroskobik lezyonlar. (Gross lesions in visceral organs with Marek's Disease). A. Karaciğerde büyüme ve çeşitli boyutta multiple tümör odakları (oklar). 254 / 86. (Markedly enlarged liver and multiple lymphoid lesions of varying size (arrows)). B. Pankreasta tümöral kitle (ok). 226 / 87. (Tumour on the pancreas (arrow)). C. Kalbin apesinde tümör (ok). 254 / 86. (Tumour on the apex of the heart (arrow)). D. Böbreklerde çok sayıda irili ufaklı (ince oklar) ve yumurtalıkta (kalın ok) tümöral nodüller. 254 / 86. (Varying sized numerous tumoral nodules on kidney (thin arrows) and tumoral nodules on ovarium (thick arrow)).

leri ve irili-ufaklı nodüler kitleleri geliştirdikleri (Şekil 1D, 2D) dikkati çekti. Ayrıca bazı olgularda bursa Fabricii'nin de büyüdüğü önemli bir bulgu olarak gözlemlendi.

İskelet kaslarından özellikle göğüste m. pectoralis'in pars thoracicus'u üzerinde ve bacakta m. pubishiofemorales'te parlak görünümün kaybolduğu, bu kasların sarımsı bir renk aldıkları ve atrofiye uğradıkları dikkati çeken bir başka bulgu idi (Şekil 1D).

Mikroskobik Bulgular: Mikroskobik bulgu sonuçları Tablo 3'te gösterilmiştir.

Tablo 3. Marek Hastalıklı Piliçlerde Organlarda Görülen Histopatolojik Bulgular

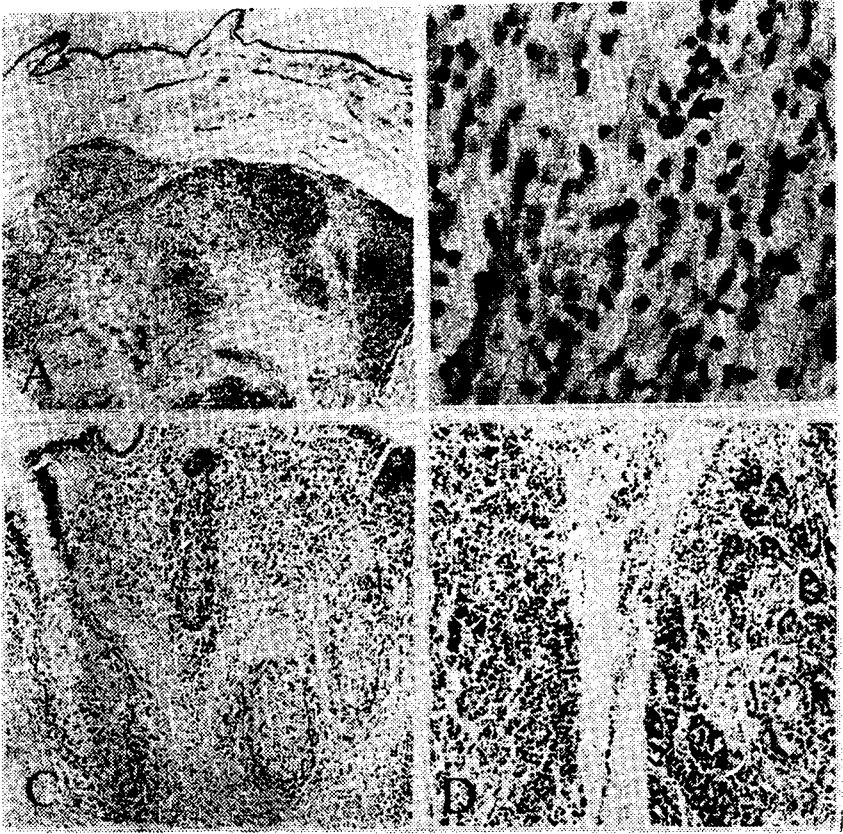
Sıra No	Otopsi No	Deri	N. ischiadicus	Bursa Fabricii	Diğer Organlar									İskelet Kası
					Bezelsel mide	İnce bağırsak	Karaciğer	Dalak	Timus	Kalp	Akciğer	Yumurta	Böbrek	
1	236 / 86	+	-	-	++	-	+	+	-	-	+	++	+++	-
2	237 / 86	-	+	-	+	-	+	+	-	-	+	-	+++	-
3	239 / 86	+	-	Y	+	-	+	+	-	-	-	-	+	Y
4	241 / 86	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-
5	242 / 86	++	+	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-
6	243 / 86	++	+	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-
7	250 / 86	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-
8	251 / 86	+	+	+	++	+	+	+	-	-	-	-	++	+
9	252 / 86	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	++	+
10	253 / 86	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+
11	254 / 86	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+
12	255 / 86	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-
13	256 / 86	-	+	-	+	-	+	Y	+	-	-	-	+	-
14	257 / 86	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-
15	258 / 86	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	+
16	259 / 86	+	-	+	Y	Y	-	+	+	Y	Y	Y	-	+
17	260 / 86	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+
18	261 / 86	+	+	+	++	-	+	+	-	+	-	-	-	Y
19	270 / 86	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-
20	271 / 86	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-
21	272 / 86	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-
22	273 / 86	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-
23	274 / 86	+	-	-	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-
24	275 / 86	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+
25	285 / 86	-	+	-	+	-	++	+	-	-	-	+	++	++
26	286 / 86	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+
27	287 / 86	+	-	-	++	-	+	+	+	+	-	-	+	+
28	288 / 86	+	+	-	+	-	++	+	+	+	-	-	+	Y
29	289 / 86	+	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-
30	290 / 86	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	-
31	291 / 86	++	+	+	+	-	+	+	+	-	+	++	+	-
32	292 / 86	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+
33	293 / 86	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	++
34	294 / 86	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	++
35	295 / 86	+	+	-	+	-	+	+	-	-	+	-	+	++
36	296 / 86	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	Y
37	297 / 86	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+

38	298 / 86	+	+	—	—	+	+	+	+	—	—	—	—
39	299 / 86	+	+	—	—	+	+	+	+	—	—	—	—
40	300 / 86	++	+	—	—	+	+	+	+	—	—	—	—
41	301 / 86	+	—	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
42	302 / 86	+	—	—	—	+	+	+	+	—	—	—	—
43	303 / 86	+	++	+++	+++	+	+	+	+	—	—	—	—
44	330 / 86	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
45	331 / 86	+	—	Y	—	+	+	+	+	+	+	+	+
46	332 / 86	+	+	Y	—	+	+	+	+	+	+	+	+
47	333 / 86	+	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
48	334 / 86	+	+	+	+	+++	+++	+	+	+	+	+	+
49	335 / 83	—	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
50	336 / 86	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
51	182 / 87	+	—	+++	—	+	+	+	+	+	+	+	+
52	183 / 87	—	—	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+
53	184 / 87	—	—	Y	—	+	+	+	+	+	+	+	+
54	185 / 87	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+
55	186 / 87	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+
56	187 / 87	—	+++	+++	—	+	+	+	+	+	+	+	+
57	188 / 87	—	—	+++	Y	Y	+	+	+	+	+	+	+
58	189 / 87	—	++	+++	—	—	+	+	+	+	+	+	+
59	190 / 87	—	—	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+
60	191 / 87	—	—	+++	—	—	+	+	+	+	+	+	+
61	192 / 87	—	—	—	Y	Y	+	+	+	+	+	+	+
62	193 / 87	—	Y	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
63	194 / 87	—	+	—	Y	Y	+	+	+	+	+	+	+
64	195 / 87	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
65	196 / 87	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
66	206 / 87	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—
67	207 / 87	—	—	+	+	—	Y	—	—	—	—	—	—
68	208 / 87	—	—	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—
69	209 / 87	++	—	—	+	+	+	—	—	—	—	+	+
70	210 / 87	Y	—	Y	+	+	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
71	219 / 87	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—
72	220 / 87	++	+++	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+
73	221 / 87	+++	++	+	+++	—	+	+	+	+	+	+	+
74	222 / 87	++	+++	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+
75	223 / 87	+	+	Y	+	—	+	+	+	+	+	+	+
76	224 / 87	+	+++	—	+	—	+	+	+	+	+	+	+
77	225 / 87	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+
78	226 / 87	++	++	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+
79	227 / 87	+	+++	+	—	—	—	—	—	—	—	+	+
80	228 / 87	+	+++	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+

+++ : Hastalığa ait bulgular belirgin. ++ : Hastalığa ait bulgular orta derecede. + : Hastalığa ait bulgular az gelişmiş. — : Hastalığa ait bulgu yok.

Y : Organ yok

Deri: Seksen adet Marek Hastalıklı piliçten 61 olayda deride çok katlı yassı epitel altında yaygın ve kümeler yapmış, bazı olgularda da perivasküler ve tüy follükülleri çevresinde yerleşim gösteren, çoğunlukla lenfositlere, ayrıca bazı olaylarda yer yer az sayıda plazma hücreleri ve heterofillere de rastlanılmıştır (Şekil 3A).



Şekil 3. Marek hastalığında mikroskopik bulguların görünümü. (Microscopic lesions of Marek's Disease). A. Deride epidermis altında lenfosit toplulukları. 226 / 87. H.E. \times 40. (The lymphocytic accumulations under the epidermis). B. N. ischiadicus'ta Marek Hastalığı Hücresi (ok), lenfosit, plazma hücresi ve histiyosit infiltrasyonu. 253 / 86. H.E. \times 1100. (The infiltrations of Marek's Disease Cell (arrow), lymphocytes, plasma cells and macrophages in ischiadic nerve). C. Bursa Fabricii'de interfolliküler bağ dokuda lenfoid hücre infiltrasyonu ve lenfoidi follüküllerde hücre azalması. 251 / 86. H.E. \times 130. (The extreme follicular degeneration with associated lymphoid cell infiltration in the interfollicular spaces of the bursa Fabricii). D. Pankreasta yoğun lenfoid hücre infiltrasyonu. 226 / 87. H.E. \times 230. (Diffuse lymphoid cell infiltration in pancreas).

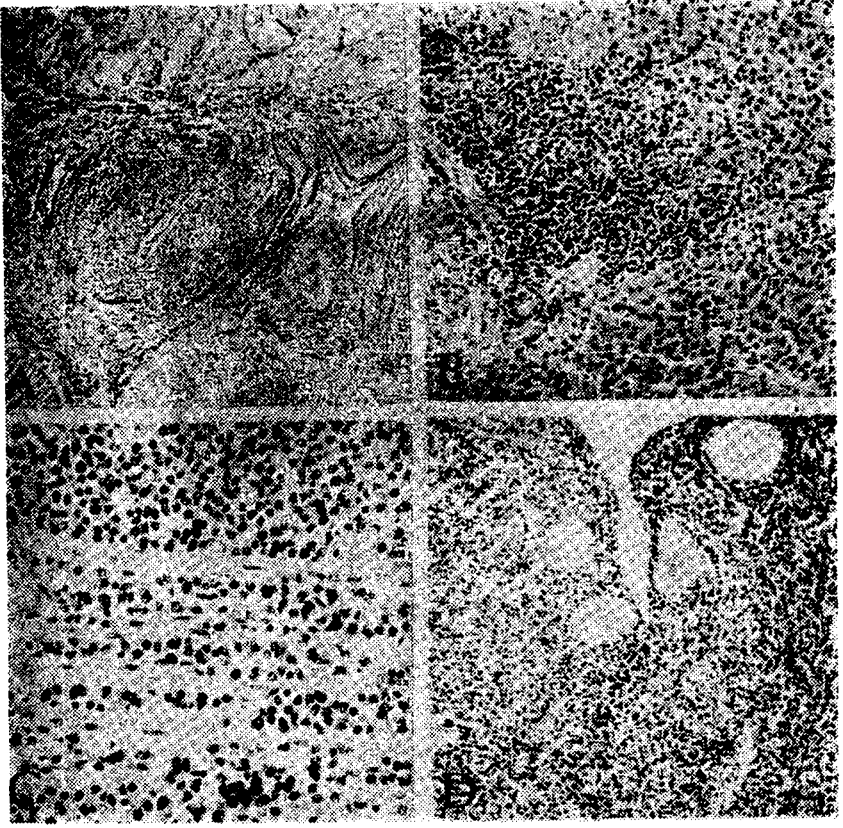
Toplanılan 80 Marek Hastalıklı piliçten yalnızca 15 adedinde deride tümöral oluşumlar gözlenmiştir. Geri kalan 65 olgudan 46 adedinde yine mikroskobik deri bulguları saptanmış, 19 olguda ise herhangi bir deri bulgusu görülememiştir. Ayrıca tüy follikül epitel hücrelerinde intranükleer inklüzyon cisimciklerinin saptanması için phloxine-tartrazine ile boyanmış preparatlarda hiçbir olguda inklüzyon cisimcikleri saptanamamıştır.

N. ischiadicus: Seksen Marek Hastalıklı piliçten 22 adedinde otopside makroskobik bulgular görüldü. Bunların mikroskobik incelenmesinde ödem, orta ve küçük boyutlarda lenfosit ve lenfoblastlar ile plazma hücreleri ve oldukça seyrek olarak da histiyositlere rastlandı. Makroskobik bulgu göstermeyen diğer 58 olgudan 36 adedinin mikroskobik incelenmesinde ise, az sayıda ve perivasküler olarak yerleşme gösteren orta ve küçük boyutta lenfosit infiltrasyonları seçilmekteydi. Yirmiiki olguda ise hafif bir ödem dışında herhangi bir bulguya rastlanılmadı (Şekil 3B).

Ayrıca Marek Hastalığı Hücresi ise, 80 adet olgunun methyl green-pyronin ile boyanmış preparatlarından ancak 20 olguda saptanmıştır (Şekil 3B).

Bursa Fabricii: Seksen Marek Hastalıklı piliçten otopside de makroskobik bulgu gösteren 21 olguda ve geriye kalan 59 olgudan 27 adedinde lenfoidi folliküllerde hücre azalması, bazılarında nekroz ve kist oluşumuyla stromada bağ dokusu hücresi artımı ile interfolliküler lenfoid hücre infiltrasyonu göze çarpmıştır (Şekil 3C). Otuz iki olguda ise ya herhangi bir bozukluğa rastlanılmamış ya da organ bulunamamıştır.

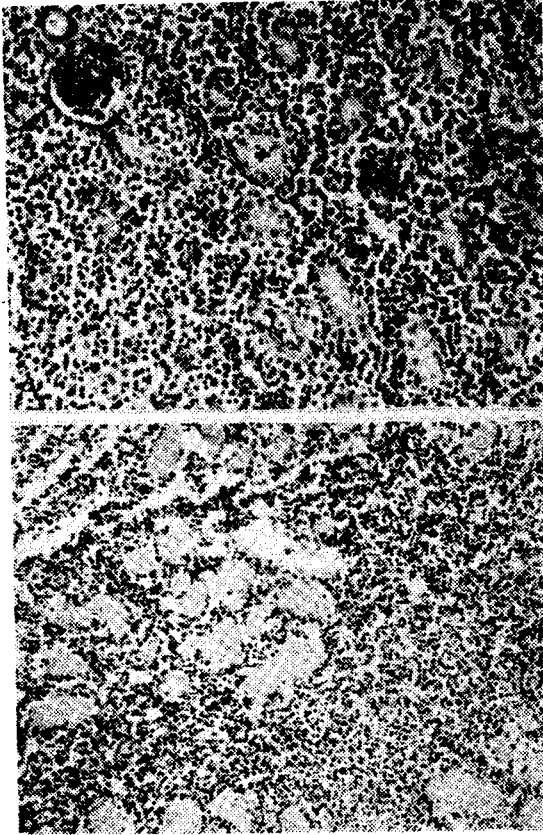
İç organlardan karaciğerde 66 (Şekil 4B), bezsel midede 64 (Şekil 4A), dalakta 58, böbrekte 55 (Şekil 5A), kalpte 35 (Şekil 4C), yumurtalıklarda 23 (Şekil 4D), ince bağırsakta 7, pankreasta 1 (Şekil 3D) ve iskelet kaslarında 29 olguda (Şekil 5B) gerek fokal ve gerekse yaygın alanlar halinde, özellikle perivasküler yerleşim gösteren küçük ve orta boyutlardaki lenfositler ile lenfoblastlar ve plazma hücre topluluklarının organ parankiminin normal yapısını bozdukları, bazı organlarda ise histolojik yapının güçlüğüle seçilebildiği ve sık olarak mitotik figürlere rastlanıldığı dikkati çekmiştir. Buna karşın 12 olguda Marek Hastalığı klinik şemptomları bulunmasına rağmen makroskobik bulguya rastlanılmamış ve bunun da 10 adedinde bazı iç organlarda hafif lenfoid hücre infiltrasyonları perivasküler olarak görülmüş, ancak 2 olguda herhangi bir mikroskobik bulguya rastlanılmamıştır.



Şekil 4. A. Bezel miçde propria mukoza ve bezlerin bulunduğu bölgede lenfoid hücre topluluklarının görünümü, 236 / 86. H.E. \times 60 (The appearance of the moderate lymphoid cell infiltration in the propria mucosae and between proventricular glands). B. Karaciğerde portal bölgede lenfoid hücre topluluklarının görünümü, 255 / 86. H.E. \times 230. (Focal lymphoid cell accumulation in the portal area of the liver). C. Kalpte kas demetleri arasında yoğun lenfoid hücre infiltrasyonunun görünümü, 237 / 86. H.E. \times 475. (Diffuse infiltration of lymphoid cell between the intermuscular fibers of the heart). D. Yumurtalıkta lenfoid hücre infiltrasyonunun görünümü, 226 / 87. H.E. \times 95. (Lymphoid cell infiltration in the ovary).

İmmunfloresan Bulgular: İmmunfloresan metot uygulanmasında, piliçlerin kemik iliğinden hazırlanan tuşe preparatlarda kemik iliği hücrelerinin birçoğunda intrasitoplazmik viral antijenin tespit edilmesiyle teşhis konuldu (Şekil 6A, B). Buna karşın aynı hayvanlardan alınan doku örnekleri kesitlerine ait preparatlarda ise viral antijen kemik iliğine göre daha az sayıdaki hücrede saptanabildi.

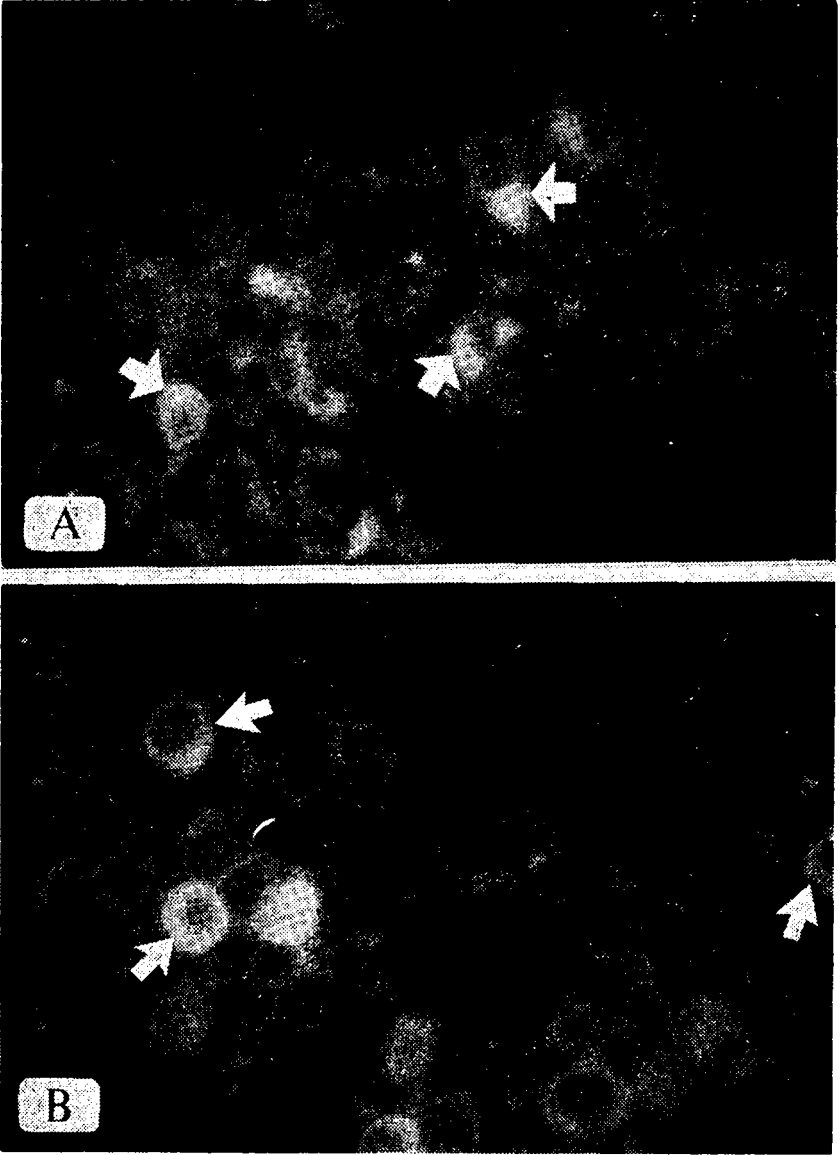
Bu metotta kullanılan anti-Marek's Disease virus serum'u ile 29 olguda kemik iliğinden hazırlanan tuşe preparatlarda ve aynı hayvan-



Şekil 5. A. Böbrekte tubuller arasında yoğun lenfoid hücre infiltrasyonu. 334 / 86. H.E. × 300. (Diffuse lymphoid cell infiltration between renal tubules). B. İskelet kasında yoğun lenfoid hücre infiltrasyonu. 258 / 86. H.E. × 230. (Diffuse lymphoid cell infiltration in skeletal muscle).

lardan hazırlanan doku örneklerinin bazılarında indirekt immunfloresan yöntemi uygulandı.

İmmunfloresan metot sonuçları Tablo 4'te gösterilmiştir. Tablo 4'te de görüldüğü gibi incelenmesi yapılabilen hasta piliçlerin hepsinin de Marek Hastalığı yönünden müspet sonuç verdiği saptandı.



Şekil 6. Marek Hastalığından etkilenen piliçlerde kemik iliği hücrelerinin sitoplazmalarında intrasitoplazmik viral antijenin görünümü (oklar) (Kemik iliği, tuşe preparat). A. 186 / 87. \times 1480. B. 209 / 87. \times 1480. (Appearance of the intracytoplasmic viral antigens in the bone marrow cells of the chickens affected of Marek's Disease (arrows)).

Tablo 4. Marek Hastalıklı Piliçlerde Görülen İmmunfloresan Bulgular

Otopsi no.	N. ischiadicus	Karaciğer	Dalak	Böbrek	Kemik iliği	IF diagnoz
183 / 87	---	---	---	---	+	MD ⁺
184 / 87	---	---	---	---	+	MD ⁺
185 / 87	---	---	---	---	+	MD ⁺
186 / 87	---	---	---	---	+	MD ⁺
187 / 87	---	---	---	---	+	MD ⁺
188 / 87	---	---	---	---	+	MD ⁺
189 / 87	---	---	---	---	+	MD ⁺
190 / 87	---	---	---	---	+	MD ⁺
191 / 87	---	---	---	---	+	MD ⁺
192 / 87	---	---	---	---	+	MD ⁺
193 / 87	--	---	---	---	+	MD ⁺
194 / 87	---	---	---	---	+	MD ⁺
195 / 87	---	---	---	---	+	MD ⁺
196 / 87	---	---	---	---	+	MD ⁺
206 / 87	---	---	---	+	+	MD ⁺
207 / 87	---	---	---	---	+	MD ⁺
208 / 87	---	---	---	---	+	MD ⁺
209 / 87	---	---	---	+	+	MD ⁺
210 / 87	---	---	---	---	+	MD ⁺
219 / 87	---	---	---	---	+	MD ⁺
220 / 87	---	---	---	---	+	MD ⁺
221 / 87	---	---	---	---	+	MD ⁺
222 / 87	---	---	---	---	+	MD ⁺
223 / 87	---	---	---	---	+	MD ⁺
224 / 87	---	---	---	---	+	MD ⁺
225 / 87	---	---	---	---	+	MD ⁺
226 / 87	---	---	---	---	+	MD ⁺
227 / 87	---	---	---	---	+	MD ⁺
228 / 87	---	---	---	---	+	MD ⁺

+ İndirekt immunfloresan boyamada pozitif

— İndirekt immunfloresan boyamada negatif

Tartışma ve Sonuç

Piliçlerin viral bir hastalığı olan Marek Hastalığında ciddi kayıplara 8 haftalıktan büyük piliçlerde rastlanıldığı bildirildiğinden (4, 8), bu çalışmada da 15 haftalık ve daha büyük piliçler seçilmiştir.

Çalışmada Marek Hastalığına yakalanan piliçlerde klinik olarak kilo kaybı, koordinasyon bozukluğu, asimetric paresis, paraliz, özel oturuş şekli (balerin oturuşu), kanat uçlarının aşağı doğru sarkması, başın aşağı doğru tutulması, tortikollis, parmakların içe kıvrık durumu gibi saptanan semptomlar, araştırmacılar tarafından bildirilen (2, 8, 11, 13, 16, 27, 34, 37) bulgularla tamamen benzerlik gösterdi.

Deride 80 piliçten 15 olguda şekillenmiş belirgin büyüklükte tümör kitleler ile olguların çoğunluğunda tüy folliküllerinin büyüye-

rek belirginleştigi, ayrıca çok katlı yassı epitelin bulunduğu tüysüz veya ince tüyler bulunduran deri kısımları olan ibiklerin olguların hemen hepsinde solgun bir renk aldığı, şişkinleştigi ve bazılarında ekzamatöz deri lezyonlarının şekillendiği gözlenebildi. Ancak araştırmacılar tarafından (2, 4, 18) bu bulgular yanısıra, ibiklerde görülebilen bulguların sakal ve gerdanda da görülebileceği bildirilmişse de bu çalışmada sakal ve gerdanda herhangi bir lezyon görülemedi.

Deri bulgularının ışık mikroskopik incelenmesinde, makroskopik olarak tümöral oluşum gösteren 15 olgu ile geriye kalan 65 olgunun 46 adedinde, çok katlı yassı epitel altında hem yaygın hem de kümeler yapmış, bazı olgularda perivasküler ve tüy follikülleri çevresinde yerleşim gösteren lenfositlerden zengin, bazı olgularda da az sayıda plazma hücresi ve heterofiller, literatürlerde de (8, 18, 22, 24) belirtilmiştir. Ancak araştırmacılar tarafından spontan olaylarda 13—16 haftalık piliçlerde phloxine-tartrazine ile boyamalarda görülebileceği bildirilen (25, 31) tüy follikül epitel hücrelerinde eosinofilik intranükleer inklüzyon cisimcikleri, bu çalışmada hiçbir olguda saptanamadı.

Hastalığa yakalanmış 80 pilicin yapılan otopsilerinde makroskopik bulgular arasında 22 adedinde perifer sinirlerde hastalık için tipik bulguların geliştiği, plexus ve n. ischiadicus'ların sedef görünümündeki parlaklıkları ile birlikte enine çizgili görünümünü kaybettikleri, sarımsı bir renk aldıkları ve normalden birkaç kat kalın görünümde oldukları saptandı. Ancak araştırmacıların anılan sinirlerde bu bulgulara ilaveten bildirdiği (3, 13, 16, 22, 27, 34, 37) grimsi renk ile plexus brachialis, n. vagus ve diğer sinirlerdeki bulgular gözlenemedi.

Makroskopik bulgu gösteren 22 olgu ile diğer 58 olgudan 36 adedinde perifer sinirlerden plexus ve n. ischiadicus'ların mikroskopik incelenmesinde gözlenen ödem, orta ve küçük boyuttaki lenfositler, lenfoblastlar, plazma hücreleri ve oldukça seyrek olarak seçilebilen histiyositler dışında, araştırmacılar tarafından (5, 6, 8, 14, 17, 18, 22) bu bulgulara ilaveten görülebileceği bildirilen, myelin dejenerasyonu ve Schwann hücre proliferasyonu bu çalışmada görülemedi. Ayrıca 20 olguda bazofilik, pironinofilik ve çoğunlukla sitoplazmasında vakuoller içeren Marek Hastalığı Hücresi'nin saptanması araştırmacıların bulgularını (6, 8, 22) teyit etmektedir.

Çalışmada ayrıca bursa Fabricii'nin de literatürlerde belirtildiği gibi (6, 19, 37) hastalıktan etkilendiği, 80 pilicin 21 adedinde organın büyüdüğü, diğerlerinin atrofik görünüşte olduğu dikkati çekti.

Böyle etkilenen bursa Fabricii'lerde makroskopik bulgu gösteren 21 olgu ile kalan 59 olgudan 27 adedinde lenfoidi folliküllerde bazen hücre azalması, bazen de nekroz ve kist şekillenmesiyle, stromada bağ dokusu hücresi artımı ile interfolliküler lenfoid hücre infiltrasyonları, Jakowski, Fredrickson ve ark. (19) tarafından da vurgulanmaktadır. Ancak nekrotik alanlara eşlik eden az sayıda heterofil odaklarının da bulunabileceği aynı araştırmacılar tarafından bildirilmekte ise de, çalışmada nekrotik alanlar çevresinde heterofil odakları görülemedi.

İç organlarda gelişen makroskopik bulguların infeksiyonun şiddetine göre değiştiği, ancak bazı olgularda Marek Hastalığı klinik bulguları bulunduğu halde otopsilerde herhangi bir patolojik bulgunun şekillenmemesinin bu çalışmada da saptanması, araştırmacıların bulguları (12—14) ile paralellik sağladı.

İç organlarda lenfoid tümörlerin gelişmesiyle organların boyutlarının birkaç misline kadar büyüdükleri, solgun bir görünüm aldıkları, hem dış, hem de kesit yüzlerinde tek veya çok sayıda nodüler tümöral odakların oluştuğu, literatür bilgilerine (3, 22—24, 28, 33, 37) uygun olarak yaptığımız çalışmada da saptandı.

İç organlarda oluşan lenfomatöz değişikliklerin çoğunlukla gonadlarda ve özellikle de yumurtalıklarda yerleşeceği bildirildiği halde (13), bu çalışmada 80 piliçten yalnızca 13 adedinde yumurtalıkların gelişen tümöral oluşumlar nedeniyle karnıbahar manzarasında olduğu gözlenebildi. Yumurtalıklarda olgun ve gelişmekte olan folliküllerin yanısıra makroskopik olarak 13 olgu ile kalan 67 olgunun 10 adedinde, geniş alanlara yayılmış çoğunluğunu lenfositlerin oluşturduğu tümöral hücre proliferasyonlarının varlığı literatürde de (17) belirtilmiştir.

İmmunfloresan yöntemle hastalıkların teşhisinde en güvenilir sonuçlar elde edilebildiği artık bir gerçektir. Bu yöntemin güvenilir şekilde uygulanması yanında erken teşhis için zamanı en aza indirebilmekte gereklidir. Çünkü hastalık çıkmış olan bir çiftlikten hastalığın çevreye yayılmasının önlenmesi ve o çiftlikte bulunan hasta ve hastalıktan etkilenmiş hayvanların uzaklaştırılabilmesi, dolayısıyla çiftlikteki diğer kümeslerin kontamine olmaması için erken teşhiste de zaman çok önemlidir. Ayrıca immunfloresan yöntemin uygulanmasıyla teşhisin çabuk ve doğru bir şekilde konulabilmesinde immunfloresan yöntem için preparat hazırlama tekniği de önemli bir yer tutmaktadır (7, 11, 15, 20, 21, 24). Sunulan bu çalışmada bazı Marek Hastalıklı organlardan cryostat ile doku örnekleri de kesilmiş ve immunfloresan

yöntem uygulanmıştır. Ancak Tablo 4'te de görüleceği üzere kullanılan organ örnekleri ile yapılan uygulamada her zaman sonuç alınmamıştır. Buna karşın aynı hayvanların kemik iliklerinden hazırlanan tuşe preparatlarda sonuç daha kısa zamanda ve kesin olarak elde edilmiştir. Bu da immunfloresan yöntem ile Marek Hastalığının teşhisinde tuşe preparat hazırlama tekniğinin kullanılmasının daha uygun olduğunu ortaya koymuştur.

Marek Hastalığı üzerinde gerek histopatolojik (13, 14, 17—19, 25, 34) ve gerekse immunfloresan yöntemle yapılan çalışmalardan (1, 21, 26, 30, 32, 35, 36) elde edilen bulgular karşılaştırıldığında şu sonuç ortaya çıkmaktadır: Spontan olarak Bursa İli ve çevresindeki tavuk çiftliklerinden toplanılan piliçlerde saptanan bulgular Marek Hastalığı bulgularıdır. Marek Hastalıklı bu piliçlerde saptadığımız deri, n. ischiadicus, bursa Fabricii ve diğer iç organlardaki histolojik bulgular, hastalığın diagnozu için karakteristik bulunmuş olup, deri ve iç organ bulgularını, hastalığın henüz zayıflatamadığı piliçlerde yakalamak gereklidir. Çünkü kaşektik ve düşkünleşmiş piliçlerde erken teşhisin özellikle et tavukçuluğu yönünden pratik bir öneminin olamayacağı, ancak hastalığın yayılmasını engellemesi bakımından yararlı olacağı açıktır. Diğer taraftan tüy follikül epitellerinde bulunduğu bildirilen (25, 31) intranükleer inklüzyon cisimciklerinin saptanabilmesinin spontan olaylarda -virusun hayvanlar tarafından alınış zamanı tespit edilemediğinden- çok zor olduğu gösterilmektedir. Bunun yanında bu çalışmada da bazı piliçlerde Marek Hastalığına ait klinik semptomların bulunmasına karşın histolojik olarak hiçbir patolojik bulgunun görülmemesi veya ancak birkaç organda hafif hücrel infiltrasyonun görülmesi, ayrıca çalışmada kullanılan tavukların yaşlı oluşları gereği diğer viral etkenlerden de etkilenebilecekleri dikkate alınarak, ayırıcı tanı için immunfloresan yöntemle teşhise (erken teşhise) gitmenin yararlı olacağı kanısındayız.

Bu çalışmada da görüleceği üzere histolojik olarak herhangi bir bulgu göstermeyen ya da hafif hücrel infiltrasyon gösteren olgulara ait organlardan yapılan doku kesitlerinde indirekt immunfloresan yöntemiyle viral antijeni her zaman tespit etmenin güç olduğu görülmüştür. Bununla beraber kemik iliğinden yapılan tuşe preparatlarda her olayda kemik iliği hücrelerinde intrasitoplazmik viral antijenin saptanması, erken teşhiste immunfloresan yöntemin kullanılmasının doğru olacağını ve bunun sonucunda da büyük ekonomik kayıpların önlenilebileceği gerçeğini ortaya koymaktadır.

Bütün bu nedenlerden dolayı Marek Hastalığı gibi diğer tavuk hastalıklarının ve evcil hayvan hastalıklarının teşhisinde de immunfloresan yöntemin kullanılabilceği kanısına varılabilir.

Kaynaklar

1. Ahmed, M., Jensen, K.E., Slattey, S.M., Lecch, J.B., Schidlovsky, G. (1970): *Detection of Marek disease herpesvirus antigen by fluorescent and coating antibody*. Avian Dis., 14: 349—363.
2. Atılğan, T., Yeşilada, İ. (1971): *Marek hastalığından korunma*. Bornova Vet. Araş. Enst. Derg., 12:17—31.
3. Bankowski, R.A., Moulton, J.E., Mikami, T. (1969): *Characterization of Cal-1 strain of acute Marek's disease agent*. Am. J. vet. Res., 30:1667—1676.
4. Başkaya, H., Minbay, A. (1974): *Marek Hastalığı*. A.Ü. Vet. Fak. Yayn. 299, Monografi 200, A.Ü. Basımevi, Ankara.
5. Başkaya, H., Minbay, A. (1979): *Kümes Hayvanları Hastalıkları*. A.Ü. Vet. Fak. Yayn. 354, Ders Kitabı 252, A.Ü. Basımevi, Ankara, s. 229—243.
6. Biggs, P.M. (1967): *Marek's disease (congress paper)*. Vet. Rec., 81:583—588.
7. Calnek, B.W., Adldinger, H.K., Kahn, D.E. (1970): *Feather follicle epithelium: A source of enveloped and infectious cell-free herpesvirus from Marek's disease*. Avian Dis., 14:219—233.
8. Calnek, B.W., Witter, R.L. (1984): *Marek's disease*. p. 325—360. Ed. M.S. Hofstad. In: "Diseases of Poultry", 8 th ed., Iowa State Univ. Press, Ames, Iowa, U.S.A.
9. Chauhan, H.V.S., Panisup, A.S., White, H. (1985). *Some histochemical studies on the nervous system and skeletal muscles of poultry affected with Marek's disease*. Indian Vet. J., 62: 282—288.
10. Drury, R.A.B., Wallington, E.A. (1976). *Carleton's Histological Technique*. 4 th ed., London, Oxford Univ. Press, New York / Toronto, p. 160—163, 336—337.
11. Ekperigin, H.E., Fadly, A.M., Lee, L.F., Liu, X., McCapes, R.H. (1983). *Comb lesions and mortality patterns in white leghorn layers affected by Marek's disease*. Avian Dis., 27:503—512.
12. Fletcher, O.J., Schierman, L.W. (1985): *Variation in histology and growth characteristics of transplantable Marek's disease lymphomas*. Cancer Res., 45: 1762—1765.
13. Fujimoto, Y., Nakagawa, M., Okada, K., Okada, M., Matsukawa, K. (1971): *Pathological studies of Marek's disease. I. The histopathology of field cases in Japan*. Jap. J. vet. Res., 19:7—26.
14. Ginting, N. (1983). *Marek's disease in kedu chickens*. Penyakit Hewan, 15:79—81.
15. Glünder, Von G., Neumann, U., Redmann, U.H., Friederichs, M. (1985): *Kammveränderungen als Manifestation der Marekschen Krankheit des Huhnes*. Prakt. Tierarzt, 5:423—425.

16. Goodchild, W.M. (1969): *Some observation on Marek's disease (fowl paralysis)*. Vet. Rec., 84:87—89.
17. Grundboeck, M., Cauchy, L., Coudert, F., Dambrine, G. (1984): *Cytological and cytochemical investigations on lymphoid and hematopoietic organs, nerves, irises and neoplastic tissues in chickens affected with avian tumor viruses*. Bull. vet. Inst. Pulawy, 27: 35—46.
18. Helmboldt, C.F., Wills, F.K., Frazier, M.N. (1963): *Field observations of the pathology of skin leukosis in Gallus gallus*. Avian Dis., 7:402—411.
19. Jakowski, R.M., Fredrickson, T.N., Luginbuhl, R.E., Helmboldt, C.F. (1969): *Early changes in bursa of Fabricius from Marek's disease*. Avian Dis., 13: 215—222.
20. Kawamura, A. Jr. (1977): *Fluorescent Antibody Techniques and Their Applications*. 2 nd ed., Univ. of Tokyo Press, Tokyo, p. 5—7, 68—94.
21. Kottaridis, S.D., Luginbuhl, R.E. (1968): *Marek's disease. III. Immunofluorescent studies*. Avian Dis., 12:383—393.
22. Kökiuslu, C., Özkul, İ.A. (1978): *Tavuk deri biopsilerinde deri, tüy follikül epitelleri ve otopsi bulgularının histopatolojik incelenmesi ile Marek hastalığının tespiti üzerinde araştırmalar*. A.Ü. Vet. Fak. Derg., 25: 383—397.
23. Matsuda, H., Okamoto, J., Sekiya, Y., Yamada, M., Uno, F., Marata, M., Nii, S. (1983): *In vivo characteristics of a transplantable Marek's disease lymphoblastoid cell line. MDCC-MSBI—41C*. Avian Dis., 27:992—1001.
24. Mohanty, G.C., Sharma, R.N., Gopalkrishna, S., Pradhan, H.K., Rajya, B.S. (1976): *Lesions of Marek's disease in some modified cutaneous appendages of chicken*. Poultry Sci., 55:40—44.
25. Moriguchi, R., Fujimoto, Y., Izawa, H. (1984). *Marek's disease in field chickens: Correlation between incidence of Marek's disease and nuclear-inclusion formation in the feather follicle epithelium*. Avian Dis., 28:331—342.
26. Nazerian, K., Purchase, H.G. (1970): *Combined fluorescent-antibody and electron microscopy study of Marek's disease virus-infected cell culture*. J. Virol., 5:79—90.
27. Nicholls, T.J. (1984): *Marek's disease in sixty week-old laying chickens*. Aust. vet. J., 61:243.
28. Neumann, U., Witter, R.L. (1979): *Differential diagnosis of lymphoid leukosis and Marek's disease by tumor-associated criteria. II. Studies on field cases*. Avian Dis., 23: 426—433.
29. Özcel, M.A. (1978): *Immunofluoresans ve Parazitolojide Uygulanması*. Ege Üniv. Tıp Fak. Yayn. 108, Ege Üniv. Matbaası, İzmir, s. 5—16, 89—100.
30. Purchase, H.G. (1969): *Immunofluorescence in the study of Marek's disease. I. Detection of antigen in cell culture and an antigenic comparison of eight isolates*. J. Virol., 3:557—565.
31. Purchase, H.G. (1970): *Virus-specific immunofluorescent and precipitin antigens and cell-free virus in the tissue of birds infected with Marek's disease*. Cancer Res., 30: 1898—1908.

32. **Purchase, H.G., Burgoyne, G.H.** (1970): *Immunofluorescence in the study of Marek's disease: Detection of antibody.* Am. J. vet. Res., 31: 117 -123.
33. **Schidlovsky, G., Ahmed, M., Jensen, K.E.** (1969): *Herpesvirus in Marek's disease tumors.* Science, 164: 959-961.
34. **Sevoian, M., Chamberlain, D.M.** (1964): *Avian lymphomatosis. IV. Pathogenesis.* Avian Dis., 8:281--310.
35. **Spencer, J.L., Calnek, B.W.** (1970): *Marek's disease: Application of immunofluorescence for detection of antigen and antibody.* Am. J. Vet. Res., 31:345—358.
36. **Yachida, S., Mikami, T., Onuma, M., Izawa, H.** (1983): *Comparative studies on antigens induced by turkey herpesvirus and Marek's disease. II. Immunofluorescent studies.* Zbl. Vet. Med. B., 30:669---677.
37. **Yamamoto, H., Yoshino, T., Hihara, H., Ishitani, R.** (1972): *Histopathologic comparison of Marek's disease with avian lymphoid leukosis.* Nat. Inst. Anim. Hlth. Quart., 12:29 - 42.