

Hindi Embriyosunda Deneysel Avian Encephalomyelitis (AE) Üzerinde Morfolojik İncelemeler*

Fethi YILMAZ

Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, Elazığ-TÜRKİYE

Harun ÖZER

Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Elazığ-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 21.01.1997

Özet: Bu çalışmada, Avian Encephalomyelitis (AE) hastalığının deneysel olarak hindi embriyosunda oluşturulmasıyla meydana gelen makroskopik ve mikroskopik değişimler incelendi. Bunun için, 120 adet 7 günlük embriyolu hindi yumurtasına AE virusu Van Roekel (AEV-VR) şusu ($EID_{50} 10^{-3}$) 1/10 oranında FTS ile sulandırılarak 0,1 ml. dozunda sarı kese yoluyla inokule edildi. Onbirinci kuluçka gününden başlayarak yumurtadan çıkışın başladığı güne kadar yumurtalar hergün düzenli olarak kontrol edildi.

Makroskopik olarak embriyolarda hareketsizlik, gelişme geriliği, beyin ödemi, tortikollis, ayaklarda çarpıklık ve parmaklarda kıvrılmalar ile gözlerde katarakt en belli başlı bulgular olarak dikkati çekti.

Mikroskopik olarak da, MSS'inde vasküler proliferasyon, ödem, gliosis, nöron dejenerasyonu ve nekrozu, m. spinaliste gliosis, nöron dejenerasyonu ve nekrozu, gözlerde katarakt ile iskelet kaslarında hyalin dejenerasyonu, nekroz ve distrofi gözlemlendi.

Anahtar Sözcükler: Avian Encephalomyelitis, Hindi embriyosu, Patolojik bulgular, Deneysel enfeksiyon.

The Morphological Investigations of Experimental Avian Encephalomyelitis in Turkey Embryo

Abstract: In this study; macroscopic and microscopic changes induced by Avian Encephalomyelitis Virus (AEV) in turkey embryos were investigated. For purpose 0,1 ml. AEV-VR (Van Roekel Strain) at Embryo Infective Dose 50 of 10^{-3} diluted in steril saline at 1/10 ratio was inoculated into 7-day-old embryonated turkey eggs via yolk sac.

The most prominent macroscopic findings were loss of embryo movements, retardation in growth, cerebral edema, torticollis, cataract, deformities in the leg and feed.

Microscopic lesions characterized by vascular proliferation, edema, gliosis, neuronal necrosis and degeneration in the brain, gliosis, neuronal degeneration and necrosis, in medulla spinalis, cataract in the eyes, hyalin degeneration, necrosis, and dystrophy in the skeletal muscles were observed.

Key Words: Avian Encephalomyelitis, Turkey embryo, Pathological findings, Experimental infection.

Giriş

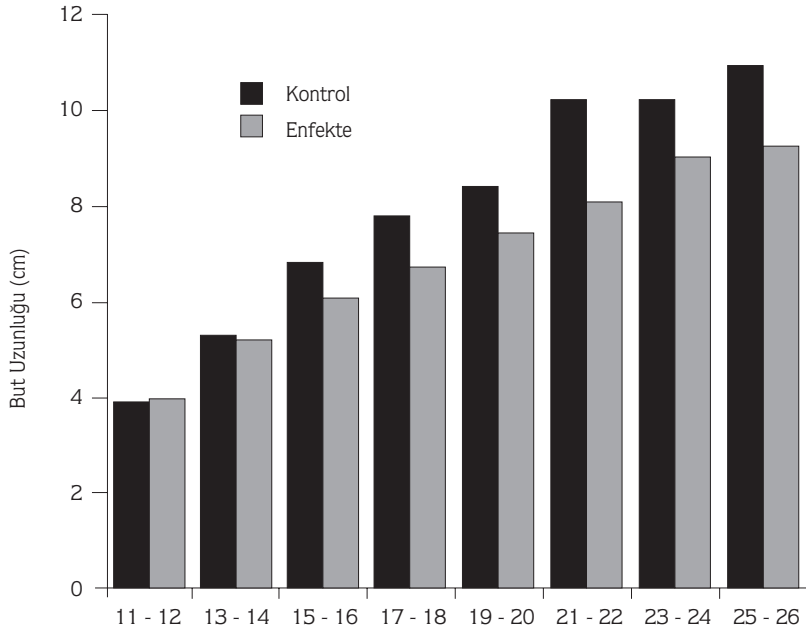
Avian Encephalomyelitis (AE) başta tavuk ve civcivlerde olmak üzere, hindi, ördek, kaz ve bunların palazları ile güvercin, beç tavuğu, bıldırcın ve sülün gibi kanatlılarda görülen çok yaygın, bulaşıcı, akut seyirli viral bir hastalıktır (1-5). Hastalık inkoordinasyon, ataksi, paraliz, baş ve boyunda tremor gibi MSS bozukluklarıyla tanınmaktadır (4, 5).

Tavuk yetiştiriciliğinde her zaman sorun olabilecek hastalıklardan birisi olan AE, ilk kez Amerika Birleşik Devletlerinde (6), daha sonraları birçok ülkede ve 1970'li yıllardan itibaren ülkemizde varlığı bildirilen ve son

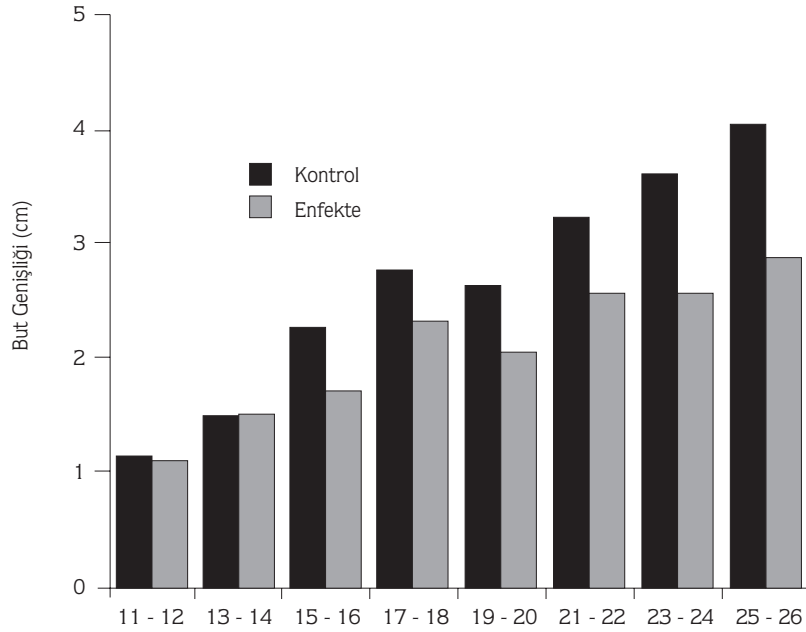
yıllarda yer yer rastlanılan bir hastalıktır (7-10). Hastalık, kuluçka işletmeleri, damızlık ve tavuk yetiştiricileri için her zaman ticari endişelere neden olmuştur. Ancak tavuklarda aşılama çalışmalarının başlamasından sonra, hastalık kısmen kontrol altına alınmıştır (11-14).

AE'den genellikle 1-35 günlük civcivler etkilenmekte olup %50'ye varabilen ölüm olayları gözlenmektedir. Civcivlerdeki ölüm daha ziyade felcin neden olduğu yem ve su ihtiyacının karşılanamamasından kaynaklanmaktadır. Ergin tavuklar ve piliçler de enfekte olabilmekte fakat klinik hastalık tablosu oluşmamaktadır (12, 15, 16). Bu gibi hayvanlarda enfeksiyon genellikle latent bir

*Doktora Tezinden alınmıştır.



Şekil 1. Embriyo but uzunluğu ile kuluçka günleri arasındaki ilişki.

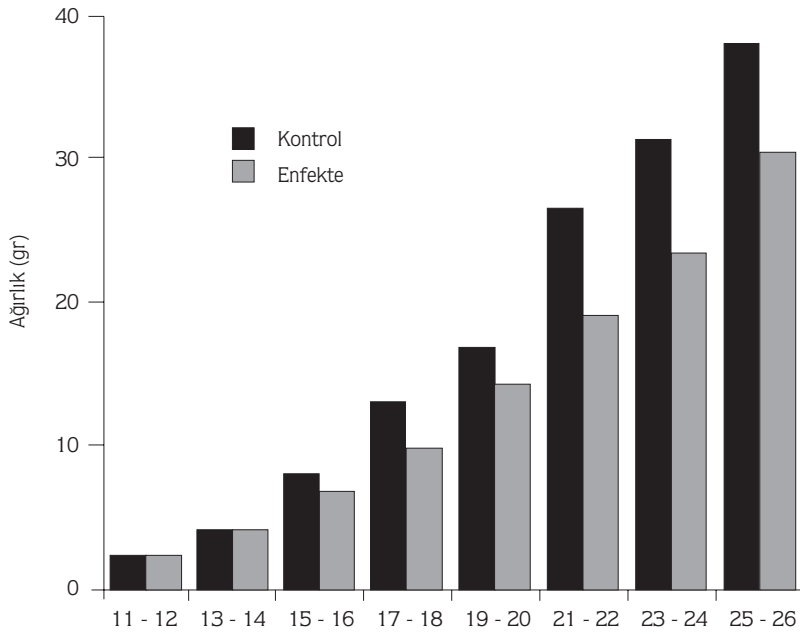


Şekil 2. Embriyo but genişliği ile kuluçka günleri arasındaki ilişki.

seyir izlemektedir. Bu nedenle latent olarak enfekte olan piliç ve tavuklar virus rezervuarı olarak görülürler (12, 15-17). Genç piliçlerde (1-5 haftalık) hastalığın klinik seyri ve patolojik bulguları farklılık gösterebilir (17, 18). Erken yaşlarda (1-8 günlük) histopatolojik bulgular; MSS'inde yaygın nöron ve glia hücrelerinde dejenerasyon ve nekroz ile az miktarda sıvı eksudasyonu ve lenfosit infiltrasyonundan ibaret yangısel reaksiyonlarla karakterizedir. Daha yaşlı piliçlerde (8-28 günlük) ise

klinik belirtiler hafif olup, histopatolojik olarak da MSS'inde perivasküler lenfosit infiltrasyonları, vasküler ve glial infiltrasyonlar şekillenir (19, 20).

Yumurta adaptasyonu edilmiş AE virus suşlarının allantois boşluğa, sarı keseye ya da intraoküler yolla inokule edilmesiyle, virusun tavuk embriyosunda replikasyonunun bir sonucu olarak bacak kaslarında distrofi, küçükleme, ayak ve bacaklarda çarpıklık, pakmaklarda kıvrılmalar, paraliz ya da embriyoda hareketsizlik ve ölümlerin



Şekil 3. Embriyo ağırlığı ile kuluçka günleri arasındaki ilişki.



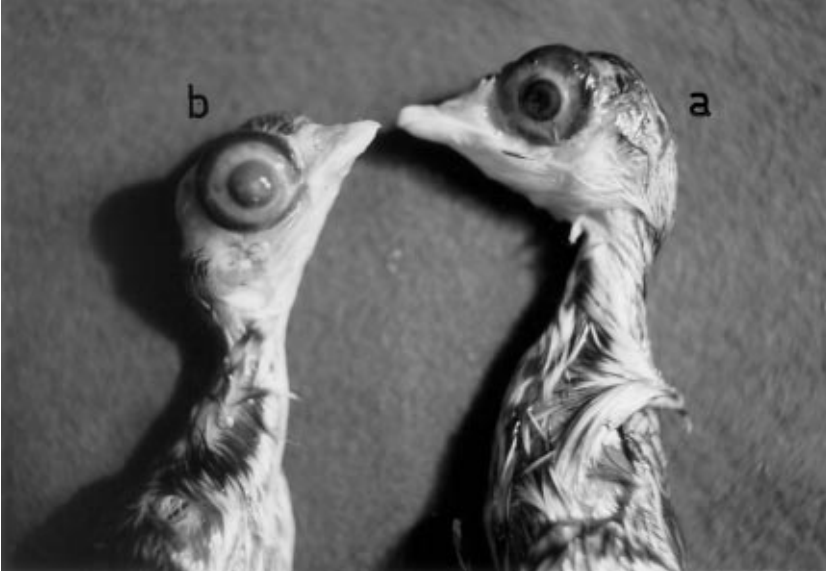
Şekil 4. Enfekte embriyoda gelişme geriliği a- Kontrol b- Enfekte (17 Kuluçka günü).

meydana geldiği bildirilmiştir (21, 22). Yumurtaya adapte edilmiş saha izolatlarının tavuk embriyosuna inokulasyonu ile bu lezyonların şekillenmediği, sadece kuluçkadan sonra civcivlerde hastalıkla ilgili tipik klinik belirtilerin görüldüğü bildirilmiştir (23).

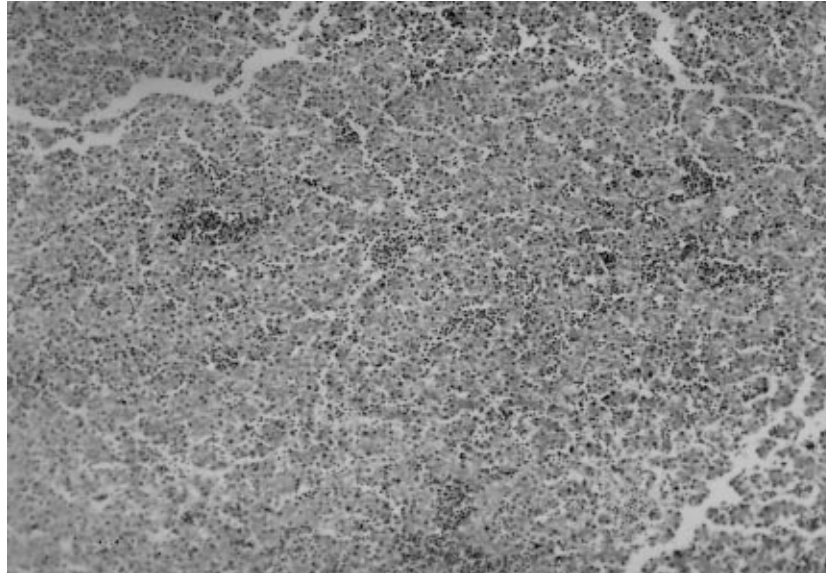
Nekropside civcivlerde, kassel midede beyazımsı renkte küçük odaklara rastlanılmıştır. Bunların görülebilen ender değişiklikler olduğu, enfekte olan erişkinlerde ise tanımlanabilecek lezyonların bulunmadığı bildirilmiştir (24, 25). Yapılan bazı deneysel çalışmalarda ise enfekte edilen hayvanlarda hidrosefalus ve vücut kaslarında özellikle ayaklarda, B. fabrici ve dalakta atrofi belirlenmiştir (26, 27).

AE'de mikroskopik değişiklikler, iç organlarda da görülmekle beraber esas olarak MSS'inde daha ağırlıktadır (8). Şekillenen lezyonlar, beyin ve medulla spinaliste diffuz veya fokal odaklar şeklinde non-prulent akut bir encephalomyelitis ile karakterizedir (14, 28, 29, 30). Non-prulent encephalomyelitis'in perivasküler hücre infiltrasyonu, gliosis, nöronal dejenerasyon ve nekroz gibi değişimleri kapsadığı belirlenmiştir (8, 27). Perivasküler mononükleer hücre infiltrasyonu serebrum, serebulum ve m. spinaliste gözlenmiştir. AE için karakteristik kabul edilen orta beynin bazı çekirdeklerinde değişen derecelerde gliosis ve patognomonik bir bulgu olarak kabul edilen sentral kromatolizise de rastlanmıştır (8, 14, 17, 25, 27).

AE'de iç organlarda fokal lenfosit infiltrasyonları



Şekil 5. Enfekte embriyoda gözlerde belirgin katarakt a-Kontrol b-Enfekte (22. Kuluçka günü).



Şekil 6. Karaciğerde sinuzoidal dilataşyon ve konjesyon (12. kuluçka günü. H.E X 132).

görüldüğü, bu infiltrasyonların bezli mide, muskuler mide ve pankreasta fokal odaklar şeklinde yoğunlaştığı ve bunun hastalık için patognomonik olduğu kabul edilmiştir (8, 25, 27). Periferik sinirlerin bu hastalıktan etkilenmemesi AE için önemli bir bulgu olarak kabul edilmiştir (14, 31).

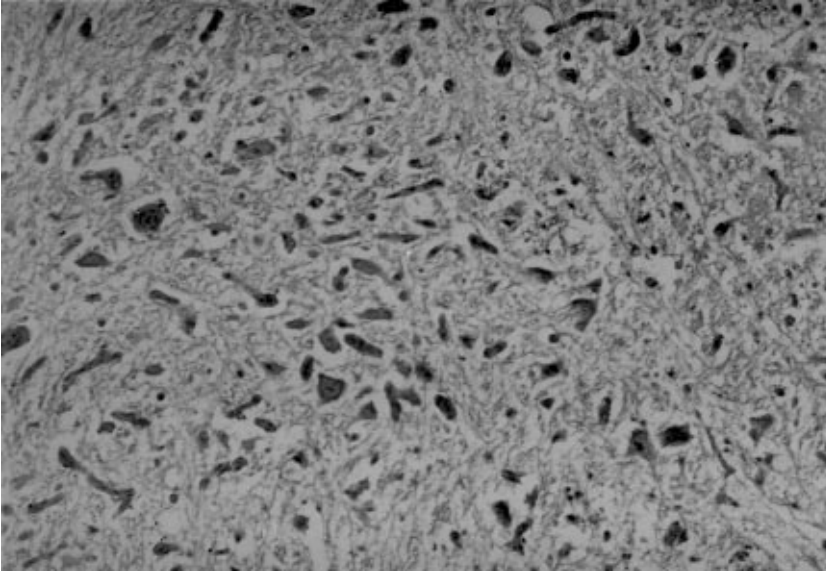
Bu çalışma ile hindi embriyolarında AE'in deneysel olarak oluşturulması, oluşan değişikliklerin makroskopik ve mikroskopik olarak incelenmesi ile bunların diğer kanatlı türlerinde yapılan çalışmalardan elde edilen bulgularla karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

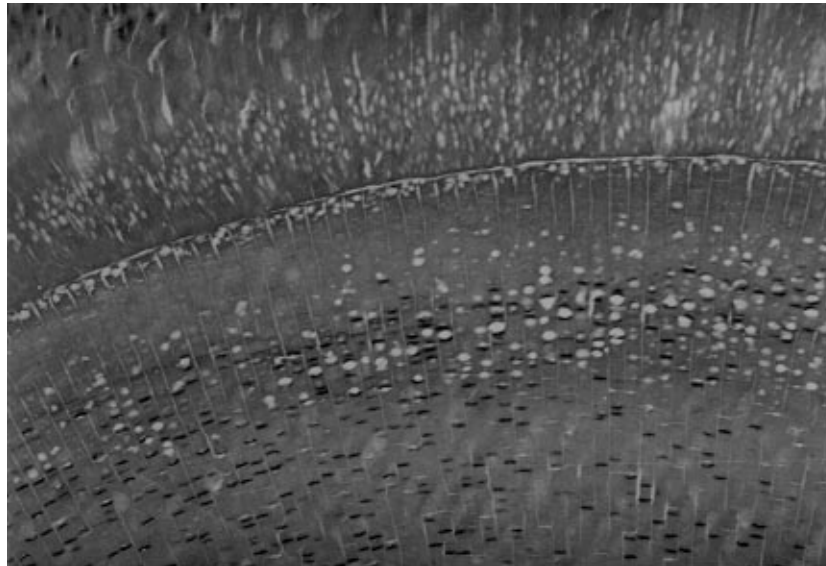
Çalışmada kullanılan virus, Manisa Tavuk Hastalıkları

Araştırma ve Aşı Üretim Enstitüsü Müdürlüğünden, yumurtalar, Tarım ve Köyüşleri Bakanlığı Bingöl İl Müdürlüğü Arıcılık ve Hindi Üretim İstasyonundan temin edildi.

Araştırmada 160 adet embriyolu hindi yumurtası kullanıldı. Bu yumurtalar, inkübasyonun 7. gününde 120 adedi enfekte, 40 adedi de kontrol grubu olarak bırakılmak üzere ikiye ayrıldı. Enfekte gruba, titresi EID_{50} 10^{-3} olarak belirlenen AE virusu Van Roekel (AEV-VR) suşu 1/10 oranında FTS ile sulandırılarak 0,1 ml. dozunda sarı kese yoluyla inokule edildi. İnokulasyon yerleri parafin ile kapatıldı ve kuluçka makinesinin ayrı bir bölümüne bırakıldı. Kontrol grubu embriyolu yumurtalar da yine kuluçka makinesinin ayrı bir bölümüne bırakıldı ve



Şekil 7. Beyinde ödem, vasküler proliferasyon, nöron dejenerasyonu ve nekroz. (15. kuluçka günü, H.E X 264).



Şekil 8. Lens'te Vakuolizasyon. (22. kuluçka günü, H.E X 264).

kuluçka makinesi tekrar 37.5°C ısıya ve %80 nem'e ayarlandı. Sonraki günlerde yumurtalar düzenli olarak hergün aynı saatlerde olmak üzere günde iki defa kontrol edildi. Karanlık odada yapılan canlılık muayenesinde ölü embriyolar belirlendi. İnokulasyondan sonraki ilk 3 günde meydana gelen embriyo ölümleri (17 adet) spesifik olmayan etkilere bağlanarak değerlendirmeye alınmadı. İnokulasyon sonrası 4.günden (11. kuluçka günü) başlayarak yumurtadan çıkışın başladığı güne kadar hergün enfekte grup embriyolardan ölenler ile canlı embriyolardan 4 adet, kontrol grubu embriyolardan da 2 adet yumurta açıldı. Yumurta kabuğu kırılıp embriyolar çıkarıldıktan sonra embriyo ağırlıkları ile but uzunluğu (gövde uzunluğu) ve but genişlikleri ölçüldü. Elde edilen

bulguların karşılaştırılmasında t-testi kullanıldı (32).

Usulüne uygun olarak nekropsileri yapılan embriyolardan öncelikle beyin, beyincik, m. spinalis (servikal, thorakal ve lumbo-sakral bölgeler) pankreas ve muskuler mide olmak üzere akciğer, karaciğer, dalak, böbrek, kalp kası, iskelet kasları, korioallantoik membran ve gözlerden örnekler alınarak %10'luk tamponlu nötral formalin solusyonunda tespit edildi. Bilinen klasik işlemlerden geçirilen doku örneklerinden parafin bloklar hazırlandı. Parafin bloklar 5 mm'ye ayarlı mikrotomda kesilerek hematoxylin-eosin (H&E) ile boyandıktan sonra ışık mikroskopunda incelendi. Gerekli hallerde beyin ve m. spinalisteki demyelinizasyon bölgelerini ortaya koymak için Woelcke metoduna göre myelin boyası yapıldı (33).

Bakteriyolojik olarak korioallantoik sıvıdan ve iç organlardan steril şartlarda alınan örneklerden bakteriyolojik ekimler yapıldı. (Kanlı agar, kıymalı buyyon)

Makroskobik Bulgular

Çalışma süresince 11. kuluçka gününde 5, 12. günde 4, 13. günde 4, 14. günde 3, 15. ve 16. günlerde 2'şer, 17. günde 2, 18., günde 1, 19. ve 20. günlerde 2'şer, 21-22. günlerde 1'er, 23-24. günlerde 1'er, 25-26. günlerde 1'er tane olmak üzere toplam 50 adet enfekte embriyonun öldüğü görüldü.

Enfekte ve kontrol grubu embriyolar arasında but uzunluğu ($P<0.01$), but genişliği ($P<0.01$) ve embriyo ağırlığı ($P<0.05$) yönünden farklılık ilk defa 15-16. kuluçka günlerinde oluşmaya başladı. Özellikle 17. kuluçka gününden itibaren cücelik, ayaklarda çarpıklık, parmaklarda kıvrılmalar ve beyin ödemi ile hemorajiler görülmeye başladı (Şekil 4). Bu lezyonların ilerleyen kuluçka günlerinde şiddetini arttırarak devam etmekte olduğu görüldü.

Yirminci kuluçka gününde tortikollis, 22. günde de diğer gruplardan farklı olarak ilk defa her iki gözde katarakt saptandı (Şekil 5). Yirmidördüncü kuluçka gününden itibaren enfekte ve kontrol grubu embriyolar arasında but uzunluğu ($P<0.001$), but genişliği ($P<0.001$) ve embriyo ağırlığı ($P<0.001$) ölçüm ve tartım sonuçlarından başka makroskobik olarak ciddi bir farklılığın şekillenmediği görüldü.

Yirmiyedinci günde ölen enfekte embriyo olmadı. Kontrol grubu embriyoların yumurtadan tamamen çıktığı görüldü. Enfekte embriyoların da yumurtayı kırdığı ve çıkmaya başladıkları gözlemlendi (2 adet).

Enfekte embriyoların korioallantoik membranlarında makroskobik olarak herhangi bir değişiklik görülmedi. Yumurtadan çıkan 2 adet enfekte hindi palazında 1. günden itibaren gelişme geriliği, baş ve boyun bölgesinde tremor, ayak ve bacaklarda ise hafif derecede çarpıklık ile ataksi gözlemlendi. Kontrol grubu hindi palazlarının ise (6 adet) normal görünümde oldukları görüldü. Enfekte hindi palazlarının 1-2 gün içerisinde ölümlerini müteakip yapılan nekropsilerinde but uzunluğu, but genişliği ve vücut ağırlığı kontrollere oranla oldukça farklılık gösterdi. Ancak iç organlarda herhangi bir lezyona rastlanmadı.

Mikroskobik Bulgular

Mikroskobik değişimler 11 ve 12. kuluçka günlerinde görülmeye başladı. Bu değişimlerin, beyin ve beyincikte ödem, meninxlerde hiperemi, nöronlarda dejenerasyon ve nekroz, medulla spinaliste özellikle de servikal bölgede

nöronlarda dejenerasyon ve nekroz, karaciğerde sinuzoidal dilatasyon ve hemoraji (Şekil 6), kaslarda ödem ve hyalin dejenerasyonu şeklinde olduğu görüldü.

Onbeşinci kuluçka gününe doğru vasküler poliferasyon, diffuz glial hücre infiltrasyonları (Şekil 7) ve kaslarda distrofi gözlemlendi. İlerleyen kuluçka günlerinde şiddetini arttırarak devam eden bu lezyonlara ilaveten 22. kuluçka gününde gözlerde katarakt saptandı (Şekil 8). Yirmikiinci günden itibaren de demyelinizasyon ve distrofinin belirgin olduğu, hepatositlerde dejenerasyon ve nekroz şekillendiği, 26. günde ise bu lezyonlara ilave olarak bir olguda göğüs kasında lenfosit infiltrasyonu kaydedildi.

Enfekte embriyolarda korioallantoik membranda mikroskobik olarak herhangi bir değişiklik görülmedi.

Bakteriyolojik olarak yapılan incelemelerde de herhangi bir etken üretilmedi.

Tartışma

Hindicilik alanındaki gelişmelere paralel olarak bu sahadaki çalışmalar ise henüz istenilen seviyede değildir. Çalışma süresince elde edilen bulguların, daha ziyade tavuk ve bildircin gibi diğer kanatlılar üzerine yapılan araştırma sonuçları ile karşılaştırılması bu zorunluluktan kaynaklanmıştır. Bu çalışmada elde edilen makroskobik ve mikroskobik bulgular tavuk, hindi ve bildircin embriyolarında (1, 2, 22, 30, 34) bildirilen bulgulara paralellik göstermektedir.

Makroskobik olarak tavuk ve bildircin embriyolarında, inokülasyondan sonraki 6. günden itibaren embriyonal gelişimin yavaşlamaya başladığı bildirilmiştir. Makroskobik olarak bildirilen bu embriyonal gelişme geriliğinin istatistiksel olarak da önemli olduğu vurgulanmıştır (30, 34). Hindi embriyolarında, inokülasyondan sonraki günlerde gittikçe artış gösteren bir embriyonal gelişme geriliğinin şekillendiği, inkübasyonun sonlarına doğru enfektelerle kontroller arasında çok bariz bir gelişme farklılığı olduğu ifade edilmiştir (1). Bu çalışmada da hindi embriyolarında ortaya konulan gelişme geriliği ilk defa inokülasyondan sonraki 8-9. günlerde (15-16. Kuluçka günleri) saptanmıştır.

Tavuk embriyolarında (22) gözlenen ayak ve bacaklardaki çarpıklıklar ile parmaklardaki kıvrılmaların, bildircin embriyolarında (34) oluşmadığı bildirilmiştir. Bu çalışmada ise hindi embriyolarında 15-16. kuluçka günlerinde başlayan ayak ve bacaklardaki çarpıklık ile parmaklardaki kıvrılmaların şiddeti, 19-23. kuluçka günleri arasında en yüksek seviyeye ulaşmış olup 24.

günden itibaren ise azalmaya başlamıştır. Ayrıca enfekte yumurtadan çıkan 2 adet hindi palazında da bu lezyonların embriyonal dönemdeki lezyonlardan daha hafif görünümde olduğu gözlenmiştir. Bu bulgular tavuk ve hindi embriyolarının AE'e karşı bıldırcın embriyolarından daha hassas olduğunu ortaya koymaktadır.

Enfekte edilmiş yumurtalardan çıkan bıldırcın palazlarında (34) baş ve boyun bölgesinde tremor, ayak ve bacakların gergin bir hal alması, ataksi, yem ve suya karşı isteksizlik, korneanın tek taraflı mat bir görünüm alması gibi klinik semptomların görüldüğü, bunların nekropsilerinde ise iç organlarda herhangi bir bulguya rastlanılmadığı bildirilmiştir. Yine deneysel olarak enfekte edilen 1 günlük civcivlerde (27) de, inokülasyondan sonraki 6. günde klinik bulguların ortaya çıkmaya başladığı ve bıldırcın palazlarındaki benzer bulguların şekillendiği saptanmıştır.

Bu çalışmada da enfekte grup yumurtalardan çıkan 2 adet hindi palazında 1. günden itibaren gelişme geriliği, baş ve boyun bölgesinde tremor, ayak ve bacaklarda hafif derecede çarpıklık ve ataksi gözlemlendi. Bunların nekropsilerinde ise iç organlarda herhangi bir lezyona rastlanılmadı. Bu da hindi palazı, civciv ve bıldırcın palazlarındaki lezyonların birbirlerine benzemekte olduğunu göstermektedir.

Bakteriyolojik ekimlerden herhangi bir etkenin üretilmemiş olması, bakteriyel kontaminasyon ihtimalini ortadan kaldırmıştır.

Bu çalışmada ortaya konan MSS, iç organlar ve kaslardaki mikroskopik bulgulara benzeri bulgular tavuk, hindi ve bıldırcın embriyonlarında da gözlenmiştir (1, 2, 21, 23, 34).

Beyin ve beyincikte görülen vasküler proliferasyon, nöron dejenerasyonu ve nekrozu ile diffuz glia hücre infiltrasyonları tavuk embriyonlarında da görülmüştür (21, 23). Benzeri mikroskopik bulguların bıldırcın embriyonlarında da varlığından söz edilmiştir (34). Ancak bu çalışmada serebellumun purkinje hücrelerinde saptanan dejenerasyon ve nekrozlar tavuk embriyolarında da bildirilmesine rağmen bıldırcın embriyolarında gözlenmemiştir (21, 23, 34).

M. spinaliste, özellikle 15-16. kuluçka günlerinde tüm bölgelerde (servikal, thorakal, sakral) saptanan nöron dejenerasyonu ve nekroz dikkati çekici bulunmuştur. Benzeri olaylar bıldırcın embriyolarında da bildirilmiştir (34). Tavuk embriyolarında yapılan embriyolojik çalışmalarda da 15. güne kadar spinal ganglionlarda dejeneratif olayların gözlemlendiği ve fizyolojik olarak değerlendirilmesi gerektiği kaydedilmiştir (35). Bu

çalışmada ortaya konulan nöron nekrozu, genç piliçlerde bildirilmiş olmasına rağmen, tavuk embriyolarında yapılan çalışmalarda tespit edilmemiştir (21, 23).

M. spinaliste gözlenen nöron nekrozu, glial nodüller ve demyelinizasyon da benzer şekilde piliçlerde kaydedilmiş (19, 24, 36), ancak tavuk embriyolarında yapılan çalışmalarda sözkonusu bulguların varlığından söz edilmiştir.

Bu çalışmada kaslarda görülen distrofi, hyalin dejenerasyonu ve nekroz birçok araştırmacı tarafından (1, 21, 23, 34, 37) tavuk, hindi ve bıldırcın embriyolarında bildirilen mikroskopik bulgulardır.

Mikroskopik olarak kalp kası, kaslı midenin muskuler tabakası, pankreas ve iskelet kaslarında genç piliçlerdekinin aksine lenfosit infiltrasyonları gözlenmemiştir. Tavuk ve bıldırcın embriyolarında yapılan çalışmalarda (21, 23, 26) hastalığın teşhisi için patognomik olarak kabul edilen bu tür infiltrasyonlardan söz edilmemiştir. İnfiltrate olan hücrelerin B lenfositlerden oluştuğu ve bursektomi uygulamalarının genç piliçlerde hastalığın klinik olarak şiddetli seyretmesine neden olduğu ve hücre infiltrasyonlarının daha az yoğunlukta oluşmasına yol açtığı ortaya konulmuştur (17). Gerek tavuk ve bıldırcınlarda ve gerekse bu çalışmada hindi embriyolarında söz konusu infiltrasyonların şekillenmemiş olması, lenfositlerin bursa Fabricius'daki gelişim aşamalarını henüz tamamlamamış olmaları ile izah edilebilir (31, 38).

Mikroskopik olarak AE ile ilgili göz bulguları saptanmış olup, makroskopik olarak da opaklık görülmüştür. Bu makroskopik bulgu, piliçlerde ve kuluçkadan çıkan bıldırcınlarda da görülmesine rağmen bıldırcın embriyoların da gözlenmemiştir (7, 34, 39). Gözlerde oluşan ve katarakt'ı ifade edebilecek olan bulgular, daha önce tavuk embriyolarında yapılan çalışmalarda bildirilmemiştir (40). Yine 1 günlük civcivlerde yapılan çalışmada da oküler lezyonların görülmediği ifade edilmiştir (27). Ancak gözlerde şekillenen katarakt, mikroskopik olarak bıldırcın embriyolarında saptanmış olup, hastalığa özgü bir bulgu olarak değerlendirilmiştir (34).

Bu çalışmada, hindi embriyolarında AE'nin deneysel olarak oluşturulabileceği, oluşan makroskopik ve mikroskopik lezyonlar arasında tam bir korelasyonun varlığı ortaya konmuştur. Hastalığın teşhisi için virus izolasyonu ve serolojik yöntemlerin yanısıra, embriyolarda şekillenen makroskopik ve mikroskopik lezyonların, hastalığın tanınmasında yararlanılabilecek diğer bir yöntem olabileceği kanısına varılmıştır.

Kaynaklar

1. Desmukh, D.R., Hohlstein, W.M., McDowell, J.R., Pomeroy, B.S.: Prevalence of Avian Encephalomyelitis in Turkey Breeder Flocks. *Am. J. Vet. Res.*, 32: 1263-1267, 1971.
2. Hohlstein, W.M., Desmukh, D.R., Larsen, C.T., Sautter, J.H., Pomeroy, B.S., McDowell, J.R.: An Epidemiologic Study of Avian Encephalomyelitis in Turkeys in Minnesota. *Am. J. Vet. Res.*, 30: 2233-2242, 1970.
3. Mathey, W.J.Jr: Avian Encephalomyelitis in Pheasants. *Cornell Vet.*, 45, 89-93, 1955.
4. Schaaf, K., Lamoreux, W.F.: Control of Avian Encephalomyelitis by Vaccination. *Am. J. Vet. Res.*, 16: 627-633, 1955.
5. Taylor, L.W., Lowry, D.C., Raggi, L.G.: Effects of an Outbreak of Avian Encephalomyelitis (Epidemic Tremor) in a Breeding Flock. *Poultry Science*, 34: 1036-1045, 1955.
6. Hoekstra, J.: Experiments with Avian Encephalomyelitis. *Brit. Vet. J.*, 13: 120-132, 1964.
7. Girgin, H.: Yurdumuzda Avian Encephalomyelitis Olayları ve Göz Bulguları. *Etilik Vet. Bakt. Enst. Derg.*, 3: 1-26, 1971.
8. Hazıroğlu, R., Alçıgır, G. ve Karademir, N.: Piliçlerde Avian Encephalomyelitis. *A.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 37: 207-213, 1990.
9. Özcan, C.: Elazığ, Diyarbakır, Malatya illeri ve çevrelerinde Avian Encephalomyelitis üzerine serolojik araştırma. *Pendik Vet. Mikrobiyol. Derg.*, 25(1-2): 55-61, 1994.
10. Sönmez, G., Çarlı, K.T., Ertürk, E.: Bursa yöresinde Avina Encephalomyelitis salgını. *U.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 1, 2, 3, 1989.
11. Butterfield, W.K., Helmboldt, C.F., Luginbuhl, R.: Studies on Avian Encephalomyelitis. IV. Early Incidence and Longevity of Histopathologic Lesions in Chickens. *Avian Dis.*, 13: 53-57, 1968.
12. Calnek, B.W., Luginbuhl, R.F., McKercher, P.D., Van Roekel, H.: Committee Report on a Tentative Program for the Control of Avian Encephalomyelitis. *Avian Dis.*, 5: 456-460, 1961.
13. Feibel, F., Helmboldt, C.F., Jungherr, E.L., Carson, J.R.: Avian Encephalomyelitis-Prevalence, Pathogenicity of the Virus and Breed Susceptibility. *Am. J. Vet. Res.*, 13: 260-266, 1952.
14. Luginbuhl, R.E., Helmboldt, C.F., Calnek, B.W.: Avian Encephalomyelitis (Epidemic Tremor). P.471-481. Ed. M.S. Hofsted, H.J. Barner, B.W. Calnek, W.M. Reid, Jr. H.W. Yoder. *Poult. Dis.*, 8 th., Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA: 1984.
15. Fenner, F., Bachmann, P.A., Gibbs, E.P.J., Murphy, F.A., Studdert, M.J., White, D.O.: Picornaviridae. *Veterinary Virology*. United Kingdom, Academic Press, Inc., London, 421-440; 1987.
16. Van Roekel, H.: Avian Encephalomyelitis (Epidemic Tremor). P.771-783. Ed. H.E. Biester, L.H. Schwarte. *Poult. Dis.*, 5 th. Iowa State University Press. Ames, Iowa, USA; 1965.
17. Cheville, N.F.: The Influence of Thymic and Bursal Lymphoid Systems in the Pathogenesis of Avian Encephalomyelitis. *Am. J. Pathol.*, 58: 105-125, 1970.
18. Calnek, B.W., Taylor, P.J., Sevoian, M.: Studies on Avian Encephalomyelitis. IV. Epizootiology. *Avian Dis.*, 4: 325-347, 1961.
19. Hishida, N., Odagri, Y., Kontani, T., Horriuschl, T.: Morphological Changes of Neurons in Avian Encephalomyelitis. *Jap. J. Vet. Sci.*, 4: 169-172, 1986.
20. Sumner, F.W., Luginbuhl, M.S., Jungherr, E.L.: Studies on Avian Encephalomyelitis II. Flock Survey for Embryo Susceptibility to the Virus. *Am. J. Vet. Res.*, 15: 720-723, 1957.
21. Itakura, C., Goto, M.: Avian Encephalomyelitis in Embryos and Abnormal Chicks on the Day of Hatching. *Neurohistopathological Observations*. *Jap. J. Vet. Sci.*, 37: 21-28, 1975.
22. Miyamae, T.: Emergence Pattern of EGg-Adapted Avian Encephalomyelitis Virus by Alternating Passage in Chickens and Embryos. *Avian Dis.*, 20: 425-428, 1976.
23. Miyamae, T.: Comparative Pathogenicity of Avian Encephalomyelitis Viruses in Chicken Embryos. *Am. J. Vet. Res.*, 36: 903-907, 1975.
24. Mohanty, G.C., West, J.L.: Pathogenesis and Pathologic Features of Avian Encephalomyelitis in Chicks. *Am. J. Vet. Res.*, 29: 2387-2397, 1968.
25. Springer, W.T., Schmittle, S.C.: Avian Encephalomyelitis: A Chronical Study of the Histopathogenesis in Selected Tissue. *Avian Dis.*, 12: 229-239, 1968.
26. Mohanty, G.C., West, J.L.: Avian Encephalomyelitis. Pathogenesis and Histologic Feature of Dorsal Ganglion Lesions in Chicks. *Avian Dis.*, 16: 31-41, 1972.
27. Sağlam, Y.S.: Civcivlerde Deneysel Avian Encephalomyelitis Hastalığında Klinik ve Histopatolojik Bulguların İncelenmesi. *Doktora Tezi S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü*. Konya; 1995.
28. Arda, M., Minbay, A., Aydın, N., Akay, Ö., İzgür, M.: Avian Encephalomyelitis. *Kanatlı Hayvan Hastalıkları*. Medisan Yayınevi, Ankara, 140-144, 1994.
29. Başkaya, H. ve Minbay, A.: Kümeler Hayvanları Hastalıkları. *A.Ü. Vet. Fak. Yayınları No. 379*, A.Ü. Basımevi, Ankara, 178-182, 1980.
30. Braune, M.O., Gentry, R.F.: Avian Encephalomyelitis Virus. I. Pathogenesis in Chicken Embryos. *Avian Dis.*, 15: 638-647, 1971.

31. Riddel, C.: Avian Histopathology. First. Ed. The American Ass. of Avian Pathologist, Allen Press Inc., New York USA; 1987.
32. Snedecor, G.W., Cochran, W.G.: Statistical Methods (7th Edition) Iowa State University Press, Ames, Iowa, U.S.A.; 1980.
33. Luna, L.G.: Manuel of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology. McGraw. Hill Book Company. New York, U.S.A.; 1970.
34. Özer, H., Eröksüz, H., Eröksüz, Y., Gülcü, H.B., Muz, A., Yılmaz, F.: Avian Encephalomyelitis Virusu ile Enfekte Edilmiş Bildircin (Coturnix Coturnix Japonica) Embriolarında Patolojik Bulgular. Tr.J. Vet. Anim. Sci., 20: 2, 95-102, 1996.
35. Romanof, Ab.L.: Aivan Embriyo. First Edition. 339-344. The McMillan Company, New York. USA; 1960.
36. Asdruballi, G., Gialetti, L., Mughetti, L., Fioroni, A.: Avian Encephalomyelitis Immunoflourescence. Histopathology and Ultrastructure. Nuova-Veterinaria, 48: 360-374, 1972.
37. Jungherr, E., Sumner, F., Luginbuhl, R.E.: Pathology of Egg-Adapted Avian Encephalomyelitis. Science, 124: 80-81, 1956.
38. Veroma, L.: Bursal Development and Function. University of Turku Press. Finland; 1988.
39. Housakar, M., Mazurkiewiez, M., Mac hniks, Z.: Cataract in Fowll with Avian Encephalomyelitis. Med. Vet., 31: 520-522, 1975.
40. Babjee, A.M.: Specific and Non-Specific Conditions Affecting Avian Eyes. Vet. Bull., 39: 681-687, 1969.