

Köpeklerin Gençlik Hastalığı Aşısı ve Muafiyet Deneyleri

Mükerrem GÜLEY *

Mediha ŞENTÜRK **

Köpeklerin gençlik hastalığı (Distemper), daha çok genç köpeklerde görülen bulaşıcı ve yaygın bir hastalıktır. Hastalık evvelâ iki fazlı bir ateş yükselmesi ve akut koriza ile belirir, sonra bronşit, nezlevi bir pünomoni, şiddetli gastro enterit ve asabi semptomlar meydana çıkar. Hastalığa kurt, Tilki gibi yabani hayvanlar ile mink, ermin gibi kürk hayvanları da duyarlıdır. Gelincikler buna karşı son derece hassas olduklarından, gençlik hastalığı denemelerinde, laboratuvar hayvanı olarak kullanılırlar. Kedilerde köpek gençlik hastalığına benzer bir hastalık görülürse de köpeklerdeki ile hiç bir alakası yoktur. Distemper ne insana ne de diğer ehli hayvanlara bulaşmaz.

Distemper etkeninin filtrabl bir virus olduğu ilk defa 1905 de **Carré** (18) tarafından bildirilmiştir. Enfeksiyonunun etiyojisi üzerinde çok münakaşalar olmuş, bazı araştırmacılar **Carré**'nin buluşuna iştirak ettikleri halde bazıları'da hastalıkta *Brucella Bronchiceptica* veya diğer bakterilerin büyük bir rol oynadıklarını kabul etmişlerdir. 1926 da **Dunkin** ve **Laidlaw** (12) Gençlik hastalığına müptela köpeklerden saf olarak virus izole etmeğe muvaffak olmuşlardır. Gerçi bu hastalıktan ölen köpeklerin pünomonili akciğerlerinden veya afetzede barsaklarından bakteri izole edilmişse de bunların, virusun faaliyetinden sonra dispoze olan uzviyette, enfeksiyona iştirak ettiği kabul edilmiştir.

1923 te **puntoni**, gençlik hastalığı virusu ihtiva eden köpek beyni suspansiyonunu formalinle muamele ederek ilk nesic aşısını hazırlamış ve köpekleri aşılamağa muvaffak olmuşsa da bu çalışmaya fazla ehemmiyet verilmemiştir. 1927 de **Lebailli** viruslu dalak

(*) Kuduz Laboratuvarı şefi

(**) Doku Kültürü Laboratuvarı Mütahassısı

kullanarak iyi bir aşı yaptığını bildirmiş bunun da üzerinde fazla durulmamıştır. Bunlardan sonra **Laidlaw** ve **Dunkin'in** 1930 da bir likte yaptıkları aşı daha çok rağbet bulmuştur. **Lockhart** 1940 da virusi kanla beraber antiserum kullanarak aktif bir muafiyet teminine çalışmıştır (18).

Bunlardan sonra da ferret (bir nevi gelincik) ve embriyolu tavuk yumurtalarına adapte edilmiş aktif viruslarla muafiyet denemelerine girişilmiştir.

Hagan'a göre (18) 1939 da **Greene**, 1940 da **Greene**, **Carlson** ve **Swale** gençlik hastalığı virusunu ferretlerde seri pasajlara tabi tutmuşlar, bu pasajlar neticesi virusun köpekler için virulansı azalmış ancak hafif bir enfeksiyon meydana getirme hassası kalmıştır. Bu virusa Distemperoid adı verilmiştir. Virusun immünizan kudreti fevkalâde olmakla beraber, bazı veterinerler tatbikatta, ferret virusunun köpekler için kafi derecede attenüe olmadığını, tam sıhhatte olmayan hayvanlarda aşidan sonra ciddi enfeksiyonlar müşahade ettiklerini bildirmişlerdir.

Ondan sonraki senelerde köpeklerin bu şekilde aşılınmaları ile korunamıyacağı düşüncesi yayılmış, hatta bazı araştırmacılar hastalıkta **Carrée** virusundan gayri bir veya daha fazla virusun rol oynadığı kanaatine varmışlardır. Fakat zamanla araştırmalar gelişmiş bu husustaki bilgiler artmış, köpeklerin diğer enfeksiyöz hastalıklarının teşhisi kolaylaşmış dolayısıyla gençlik hastalığını ayırt etmek ve immünitesi üzerinde çalışmak mümkün olmuştur.

Koprowski ve arkadaşları (21) ensefalit arazi gösteren bir köpekten izole ettikleri virusla köpek - immünizasyon tecrübesi yapmışlar ve bunun klâsik distemper virusu olduğunu göstermişlerdir. Aynı zamanda **Gillespie** ve **Richart** (16) gençlik hastalığı virusunu köpek beynine adapte ederek pasaj yapmağa muvaffak olmuşlardır. Bu gün **Snyder Hill** adı ile tanınan bu virus köpeklerin immünizasyon denemelerinde test virusu olarak kullanılmakta ve kıymeti **Cabasso** (10) ve **Gillespie** (16) tarafından da teyit edilmektedir.

Araştırmalar ilerledikçe araştırmacıların pekçoğu distemperin yalnız bir virustan ileri geldiğine inanmışlar ve bundan kısa bir müddet sonra **Rubarth** ve **Lewis** (15) tarafından köpeklerde, enfeksiyöz canin hepatitis tesbit edildiği neşredilmiş fakat köpeklerin ölümü daha çok gençlik hastalığına atfedilmiştir. Yapılan histolojik çalışmalar her iki hastalıkta da inklüzyon cisimciklerinin

mevcudiyetini meydana koymuş, laboratuvar tecrübeleri de gençlik hastalığı virusuna enfeksiyöz canin hepatitis virusunun iştirakinin, köpekte çok şiddetli hastalık meydana getirdiğini göstermiştir (17). Halbuki herbiri ayrı ayrı aynı şiddetli reaksiyonu yapmamaktadır.

Embriyolu tavuk yumurtasında, virusların üreme kolaylığı ve bazılarının yumurtada seri pasajlara tabi tutulma sonucu esas orjini olan canlı için virulansının azaldığı anlaşıldıktan sonra, bazı araştırmacılar gençlik hastalığı virusunu yumurtada üretme tecrübeleri yapmışlarsa da başlangıçta pek muvaffak olamamışlardır.

İlk olarak Cenubi Afrika'da **Haig** (19) **Green**'in ferret orijinli virusunu 15 ay devam eden bir çalışma ve 90 seri pasaj neticesi corio-allantoic membrana adapte etmeğe muvaffak olmuştur. **Haig**'ten habersiz olarak Amerika'da, **Cabasso** ve **Cox** (8) Lederle ismile tanınan suşu da yumurta embriyosuna adapte etmişlerdir.

Daha sonra tavuk embriyosu doku kültüründe köpeklerin gençlik hastalığı, köpek böbrek doku kültüründe ise köpek hepatitis virusu üretilerek kombine bir aşı hazırlanmıştır (6). **Bittle ve arkadaşları** (3) köpek böbreği doku kültüründe, ürettiği distemper virusunun 20. Pasaj materyalini verdiği köpeklerde immünizasyon meydana geldiğini, fakat hiçbir hastalık belirtisi görmediğini, **Cabasso** (9) tavuk embriyosu doku kültürüne adapte ettiği virusun 36. pasajından elde ettiği aşının çok yüksek titreli olduğunu kaydetmişlerdir.

1957 senesinde bizde de **Çeliker** (11) tarafından avianize Lederle virusu ile tecrübevi mahiyette bir aşı istihsal edilmiştir.

Köpeklerin gençlik hastalığının memleketimizde birhayli yaygın olduğu ötedenberi bilinmektedir. Ankara civarındaki köpeklerde **Ertürk**'e göre (13) bu nisbet % 25 e kadar yükselmiştir.

Bilhassa büyük şehirlerde halkın süs köpekleri beslemesi, ordudaki köpeklere gençlik hastalığı aşısının tatbiki istenmesi, bizi bu çalışmayı yapmağa sevketmiştir.

MATERYAL VE METOD

Kullanılan gençlik hastalığı virusları : 1) Aşı istihsalinde kullandığımız virus, yumurtaya adapte **Lederle** distemper virusudur. Bu virus isteğimiz üzerine Cornell Üniversitesi Veteriner Araştırma Enstitüsünden **Dr. J. H. Gillespie** tarafından gönderilmiştir. Virus

1941 de hasta bir köpekten izole edilmiş olup Lederle laboratuvarında aşı ve immun serum istihsalinde kullanılmakta iken **Cabasso** (8) tarafından yumurtaya adapte edilmiştir. Virusun yumurtada 24. pasajına kadar virulansında aşık bir değişiklik görülmemişse de 28 ve ondan sonraki pasajların köpek yavruları için virulansını tamamen kaybettiği buna mukabil antijenik kudretini muhafaza ettiği tesbit edilmiştir (7).

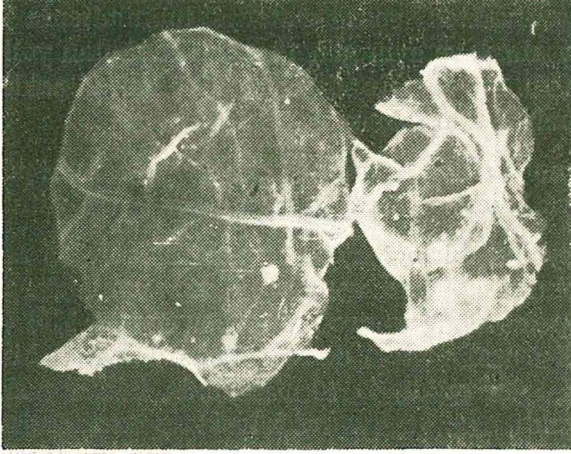
Lederle gençlik hastalığı virusu laboratuvarımıza 51. yumurta pasajında, kurutulmuş olarak gönderildi, ampul muhteviyatı 1/10 nisbetinde buffer tuzlu su ile sulandırılarak her ml için 100 ünite penicillin ilâve edildi, 8 günlük embriyolu tavuk yumurtalarının choricallantoic membranlarına 0.2 ml miktarında **Beveridge** ve **Burnet** (2) metoduna göre zerkedildi.

7 gün 37 derecede, inkubasyonda bırakılan yumurtalar açılarak chorioallantoic membranlar toplandı. Toplama esnasında, resimde görüldüğü gibi membranlar üzerinde, çıplak gözle görülebilen sayısız büyüklü küçüklü, açık gri renkte lezyonlar ve aynı zamanda membranların belirli derecede kalınlaşmış ve matlaşmış olduğu müşahede edildi. Virusun yumurtada yapılan titrasyonunda $ID_{50} 10^{3.8}/0.1$ ml olarak tesbit edildi. Toplanan zarlar ağzı kapaklı küçük şişelere taksim edilerek 52. pasaj materyali olarak donduruldu.

2) **Snyder Hill virusu** : Virus yine Cornell üniversitesinden Dr. J. A. **Baker**'in yardımı ile temin edilmiştir. Ayrı ayrı ampullerde liyofilize edilmiş olarak % 20 beyin ve dalak süspansiyonları halinde gönderilmiştir. Bu patojenik bir şuş olup generalize distemper enfeksiyonu gösteren bir köpekten **Gillespie** (16) tarafından izole edilmiştir. Intracerebral yolla köpeklerde, seri pasajlara tabi tutulmuş, 5. pasajdan sonra inkübasyon devrinin sabitleştiği ve köpekleri 6 - 16 gün içinde nöyrolojik arazla öldürdüğü görülmüştür. Bu virus immünite testlerinde kullanılmaktadır.

Laboratuvarımızda liyofilize dalak ihtiva eden ampullerden birisi açılarak % 10 nisbetinde Buffer tuzlu su ile süspansiyon yapıldı, 9 haftalık iki köpeğe intracerebral yolla 0.5 ml inoküle edildi. Köpeklerden birisi inokülasyonun 6. gününden itibaren virusun tipik arazını (yüksek feivr, epilepsi, konvülsiyon) göstermeğe başladı. 8. gün koma halinde iken öldürüldü, steril şartlar altında dalak ve beyni alınarak donduruldu.

Aşının hazırlanması : Lederle virusunun 52. pasaj materyali-



Orijinal, Gençlik hastalığı virusunun chorioallantoic membran üzerinde meydana getirdiği lezyonlar.

nin 1/10 süspansiyonundan 8 günlük embriyolu tavuk yumurtalarının chorioallantoic membranlarına 0.2 ml ekim yapıldı, 7 gün inkübasyondan sonra bu membranlar toplandı, tartıldı ve soğutulmuş mikzatörde iyice ezildi, 1500 devirde santrüfuj edilerek üstte kalan berrak kısım alındı, % 20 nisbetinde, her ml de 100 ünite penicillin ihtiva eden dayanıklılık verici (% 2 pepton, % 10 laktoz, Distile su, PH 7.2) vasatı ile sulandırıldı (20). Bir dozu 2 ml olmak üzere ampullere taksim edilerek liyofilizasyona tabi tutuldu (5,7).

Aşının kontrolleri :

Sterilite muayenesi; liyofilize edilen ampullerden birisi açılarak sulandırıldı, aerop ve anaerob ekimleri yapıldı.

Titrasyon; Aşının, buffer solusyonu ile on misli dilüsyonları hazırlandı, her dilüsyon için asgari 5 adet 8 günlük embriyolu yumurta kullanıldı, bu yumurtaların chorioallantoic membranlarına 0.1 ml ekim yapıldı. 7 gün sonra yumurtalar açılarak tetkik edildi, her dilüsyondaki durum tesbit edildi ve aşının titresi **Reed ve Muench** (22) metoduna göre hesaplandı, titrenin $ID_{50} 10^4/0.1$ ml olduğu tesbit edildi.

Zararsızlık ve bağışıklık kontrolü; İstihsal edilen aşının kontrollerinde kullanılmak üzere iki aylıktan büyük 24 adet köpek temin edildi, bunlar onbeş gün müşahedede tutuldu. Salim oldukla-

rına kanaat getirdikten sonra maternal immüntenin tesbiti maksadile kanları alındı ve aynı gün 15 adedi supkutan yolla, aşının bir dozu ile aşılandı. Vaksınasyondan sonra bu aşılı köpeklerden 10 gün müddetle sabah akşam derece alındı.

Aşılamanın birinci, altıncı, ve onikinci ayları köpeklerden tekrar kan alınarak serum nötralizasyon testine tabi tutuldu.

Vaksınasyonun birinci ayında aşılanmış olan 15 adet köpekten 5 adedi 3 kontrol köpekle, aşılamının 12. ayında da geri kalan 10 adet aşılı köpek yine 3 kontrolla beraber **Synder Hill** virusu ile eprüve edildi. Bu maksat için dondurulmuş dalaktan bir parça kesilerek tartıldı, iyice ezildi, % 10 nisbetinde, buffer tuzlu su ile suspansiyon yapıldı, aşı ve kontrol köpeklere intravenöz olarak 1 ml enjekte edildi. Eprüvasyonu müteakip 15 gün müddetle köpeklerin dereceleri ve umumi halleri kontrol edildi.

Serum nötralizasyon testi; Bu testte aşı istihsalinde kullanılan Lederle virusu kullanılmıştır. Her nötralizasyon testinden evvel virus titre edilmiş ve yumurta ID₅₀ si hesaplanmıştır.

Köpeklerden alınan serumlar 56 derecede 15 dakika inaktive edildi, sonra serumlar buffer tuzlu su PH 7.2. ile 10⁻¹ - 10⁻⁴ e kadar sulandırıldı her serum dilüsyonu takriben 300 yumurta ID₅₀ ihtiva eden virusun müsavi miktarı ile karıştırıldı, iyice çalkalandı ve iki saat müddetle firijiderde bırakıldı, inokülasyonlar esnasında tüp sehpası daima buz içinde muhafaza edildi, her serum dilüsyonu için 5 adet 8 günlük embriyolu yumurta kullanıldı. Serum - virus karışımından yumurtaların chorioallantoic membranına 0.2 ml ekim yapıldı, 7 gün 37 derece inkübasyondan sonra yumurtalar açılarak muayene edildi, chorioallantoic membranlarda görülen tipik lezyonlara göre nötralizasyonun olup olmadığına karar verildi. İki veya daha fazla grimsi beyaz sahanın görülmesi nötralizasyonun olmadığına delildir (1,14).

NETİCE

Bu tecrübeye 24 adet köpek kullanıldı, bunlar teker teker Belediye Veteriner Müdürlüğünden temin edildi, yaşlarının 2 aylıktan büyük olması üzerinde bilhassa duruldu, tecrübeye alınmadan evvel 15 gün müşahedede bırakıldı.

Evvela bu 24 köpekten kan alınarak serum nötralizasyon testine tabi tutuldu. Tabloda görüldüğü üzere 16 ve 18 No. lu köpekler müstesna diğerlerinde antikör tesbit edilemedi. Bunlardan 15 adedi 2 ml aşı ile aşılandı, aşının herhangi zararlı bir tesiri olup olmadığını anlamak maksadile 10 gün müddetle dereceleri alındı, ne termik bir reaksiyon ne de herhangi bir araz müşahede edilmedi.

Vaksinasyondan bir ay sonra aşı 15 köpekten tekrar kan alındı ve 11, 12, 13, 14, 15 numaralı 5 köpek 19, 20, 21 numaralı 3 kontrollarla beraber Snyder Hill virusu ile eprüve edildi. Aşılı ve kontrol köpeklerin 15 gün sabah akşam dereceleri alındı. Aşılılarda bariz bir derece yükselmesi tesbit edilmemesine mukabil kontrollarda yüksek fevr ve hastalığın diğer belirtileri görüldü.

Aşılamanın 12. ayında geri kalan 1 - 10 numaralı 10 aşı 1 köpek 22, 23, 24 numaralı 3 kontrollarla beraber eprüve edildi 15 gün müddetle sabah akşam dereceleri alındı 5 ve 9 nolu aşı 1 köpeklerin eprüvasyonun 3. günü dereceleri yükseldi ise de 2 gün sonra tekrar normale düştü. Kontrol köpeklerinde de 3. gün fevr ile beraber hastalığın diğer belirtileri başladı, iki tanesi bir müddet sonra iyileşti diğeri ise 10. gün öldü.

Tabloda görüldüğü üzere birinci ay sonundaki postvaksinal serum nötralizasyon titrelerinin 2.5 - 4, altıncı ayda 1.8 - 3.7, onikinci ayda ise 1.1 - 3 arasında değişmekte olduğu tesbit edilmiştir.

16, 17, 18 numaralı köpekler tecrübenin başından beri aşı 1 köpeklerle temas halinde buldukları halde kontak yolu ile virusu bulaşmadığı anlaşılmıştır.

M Ü N A K A Ş A

Yukardaki neticelere göre, Lederle avianize gençlik hastalığı virusu ile istihsal edilen aşı köpekleri virulan Snyder Hill virusunun intravenöz inokülasyonuna karşı bir yıl korumuştur. Çalışmalarımızı bir sene sonra kesmiş bulunduğumuzdan immüitenin daha ne kadar uzuyacağı tesbit edilememiştir. Bu husustaki mütalealar esasen değişiktir. Piercy (24) bir dişi köpekte aşılama 3 - 3,5 sene sonra antikör tesbit edildiğini bildirmektedir.

Gillespie ve arkadaşlarının (15,5) belirttikleri gibi iki aylıktan küçük köpeklerin pek çoğunda maternal immünite mevcut ol-

duğundan tecrübelerimizde iki ayılıktan büyük köpek yavrusu kullanmaya bilhassa dikkat ettik.

Lederle suşunun 35 ve 45 inci pasaj viruslarının end pointleri $ID_{50} 20^{2.4}$ — $ID_{50} 10^{3.6}/0.1$ ml arasında değiştiği Gillespie ve arkadaşları (14) tarafından bildirilmektedir. Aynı suşun 51 - 53 pasaj materyalinin end pointleri $ID_{50} 10^{3.8}$ $ID_{50} 10^4/0.1$ ml olduğunu tesbit etmiş bulunmaktayız.

Gillespie ve arkadaşları (14) Ott ve arkadaşlarının (23) bildirdikleri gibi avianize gençlik hastalığı virusunun nötralizan antikor tevlit ettiğini tesbit etmiş bulunmaktayız. Bu nötralizan antikorlar bir sene sonra yaptığımız testle oldukça düşmüş bulunmaktadır. Antikor titrelerinin farklı sonuçlar vermesini biz, tecrübeye bir batında doğan yavruların kullanılması icap ederken bunu temin etme imkansızlığından dolayı değişik yaş, cins ve cüssedeki hayvanların kullanılmasında, bakım ve beslenme şartlarının ideal olmasında aramaktayız.

Aşının dozunu, virusu köpeklerde titre ederek tayin etme in-kânımız olmadığından Cabasso (7) ve Burgher (5) in mesailerine göre 2 ml olarak tayin ettik.

Aşıda dayanıklık verici madde olarak sucrose -glutamate- albumin solusyonu kullanıldığı halde bunun terkibindeki bazı kimyevi maddeleri temin edemediğimizden, terkibinde % 2 pepton, % 10 laktoz, distile su PH 7.2 bulunan vasatı kullanmak mecburiyetinde kaldık.

ÖZET

Köpeklerin gençlik hastalığı için Lederle avianize Distemper virusu ile bir aşı istihsal edildi.

Bu maksat için 8 günlük embriyolu tavuk yumurtaları kullanıldı. Bunların chorioallantoic membranlarına 52. pasaj virusunun 1/10 suspansiyonundan 0.2 ml inoküle edildi. Yumurtalar 7 gün müddetle 37° C de inkubasyondan sonra açılarak membranları toplandı, ezildi, santrüfuj edildi. Üstteki kısım alınarak % 20 nisbetinde her ml de 100 ünite penicilin ihtiva eden dayanıklık verici (% 2 pepton, % 10 laktoz, distile su PH 7.2) vasat ile sulandırıldı. Steri-

lite kontrolu ve yumurtada titrasyonu yapıldı. 2 ml miktarında şişelere taksim edilerek liyofilize edildi.

Virusun titri $ID_{50} 10^{3.8}$ — $ID_{50} 10^4/0.1$ ml olarak tesbit edildi.

Bu çalışmada 2 aylıktan büyük 24 adet köpek yavrusu kullanıldı. Bunlardan 15 ine subkutan yol ile 2 ml aşı verildi. 6 sı epruvasyonda kontrol olarak kullanıldı ve 3 adedi de deney süresince aşı köpeklerle temasa bırakıldı.

Aşılı köpeklerin 10 gün müddetle dereceleri alındı, herhangi bir termik reaksiyon tesbit edilemedi.

Köpeklerin hepsinden aşılama evvel ve aşılandıktan 1 ay, 6 ay ve 12 ay sonra serumları alınarak serum nötralizasyon testine tabi tutuldu. Aşılı köpeklerden 5 adedi 3 kontrol ile beraber aşılamadan 1 ay sonra Snyder Hill virusunun 1/10 dalak süsponسیونundan 1 ml verilerek intravenöz yol ile eprüve edildi. 15 gün müddetle sabah - akşam dereceleri alındı. Aşılılarda bariz bir derece yükselmesi tesbit edilememekle beraber kontrollarda yüksek fevri ve hastalığın diğer belirtileri görüldü.

Geri kalan 10 aşılı köpek 3 kontrol ile beraber vaksınasyondan 12 ay sonra yukarıda anlatıldığı tarzda eprüve edildi. Üçüncü gün 2 aşılı köpekle beraber 3 kontrolde derece yükseldi ise de aşılılarda 1 - 2 gün içinde normale düştü. Kontrollarda hastalık belirtileri de başladı ve biri 10. gün Distemper'den öldü. Kontakt tecrübesinde bulunan 3 köpekte tecrübelerin devamı müddetince herhangi bir değişiklik tesbit edilemedi.

Aşılı köpeklerin serumlarında 12. aya doğru antikor titresinin biraz düştüğü müşahede edildi.

Köpeklerin numarası	Nötralizasyon testi			
	Prevaksinasyon	Postvaksinasyon		
		30. gün	6. ay	12. ay
1	0	3.6	3.2	2.1
2	0	3.5	3.5	2.2
3	0	4	3.2	2.5
4	0	3.2	3.2	2
5	0	2.5	1.8	1.1
6	0	4	3.7	3
7	0	3.2	3	2.8
8	0	3.5	3.5	2.9
9	0	2.9	1.8	1.2
10	0	3.2	3.2	3
11	0	3.2		
12	0	3.2		
13	0	3.5		
14	0	2.5		
15	0	3.5		
16	2.2			
17	0			
18	1.2			
19	0			
20	0			
21	0			
22	0			
23	0			
24				

* Serum titreleri pozitif log. olarak ifade edilmiştir.

S U M M A R Y
THE PRODUCTION OF AN AVIANIZED CANINE
DISTEMPER VACCINE AND THE IMMUNITY
TETS IN DOGS.

A vaccine was produced with Lederle Avianized CD virus in order to immunize the dogs against Distemper.

For the production of the vaccine eggs that had been embryonated for 8 days were each inoculated on the chorioallantoic membrane with 0.2 ml of a 10 percent suspension of 52nd passage materials of the egg - adapted CD virus.

After an incubation period of 7 days at 37° C. chorioallantoic membranes were collected and homogenized in a chilled blender. These materials were then centrifuged. The supernatant was collected and was made into a 20 percent suspension with a medium (% 2 peptone, % 10 Lactose, dist. water PH 7.2) containing 100 units of pencillin per ml..

The titration in eggs and the sterility tests were conducted. It was then distributed in 2ml quantities in small vials and lyophilized.

The titers of virus in embryonated chicken eggs were ID₅₀ 10^{3.8} to ID₅₀ 10⁴ per 0.1 ml.

In these studies 24 puppies about 8 to 9 weeks of age were used. A group of 15 puppies were inoculated subcutaneously with 2 ml of vaccine. Six controls were used, and the other 3 puppies were left as the contact controls along with these studies.

After vaccination the temperatures were taken daily from the vaccinated puppies for 10 days. None of these vaccinated puppies showed any increased temperature.

Serum - neutralization tests were carried out with the prevaccination and postvaccination sera taken at the intervals of 1,6 and 12 months from all puppies.

The virulent virus, Snyder Hill strain was used for challenge and 4 weeks after vaccination 5 of these vaccinated dogs were challenged intravenously with 1 ml of a 10 percent suspension of infected spleen. 3 controls were used.

Temperatures were taken daily for 15 days after the challenge dogs. None of the vaccinated dogs showed any increased temperature. All controls showed high temperature and the other signs of illness.

12 months after vaccination the remaining 10 vaccinated dogs were challenged in the same manner described above using 3 controls.

On the 3rd day of the challenge two vaccinated dogs and all controls showed high temperature. Within two days the vaccinated dogs became normal again. The controls showed the signs of CD. One control dog died on the 10th day.

Along with these tests all vaccinated dogs, except 2, showed no signs of illness and unvaccinated dogs placed in contact also remained free from CD.

The positive logs of serum - titers determined on 10 vaccinated dogs showed a slight decrease at the termination of the test.

TEŞEKKÜR

Yazarlar gerek bu çalışmayı teşvik eden ve çalışmalar esnasında her türlü yardımı esirgemiyen Enstitü Müdürü **Dr. Ahmet Özsoy**'a ve gerekse Lederle avianize ve Snyder Hill eprüve viruslarını gönderen New York State Veteriner kolleji bakteriyoloji departmanı profesörlerinden **Dr. James H. Gillespie**'e, Cornell Üniversitesi Veteriner Virus Araştırma Enst. de **Dr. J. A. Baker**'e teşekkürlerini arzeder.

L İ T A R E T Ü R

1. *Baker, A., J. R. Gorham and Robert W. Leader* . Studies on an in ovo neutralization test for distemper. Amer. Jour. Vet. Res., 15, 102, 1954.
2. *Beveridge, W. I. B. and F. M. Burnet* The cultivation of viruses and rickettsiae in the chick embryo. Special report series., No. 256, 1951.
3. *Bittle, J. L., C. J. York, J. W. Nevberne* . Adaptation and modification of a strain of canine distemper virus in tissue culture. Cornell vet., 359, 1961.
4. *Bovarnick, M, R., J. C. Miller, and J. C. Snyder* . The influence of certain salt, amino acids, sugars and proteins on stability of rickettsiae. Jour. Bact., 59, 509, 1950.
5. *Burgher, A. J., J. A. Baker, Siddhertha Sarkar., Vincent Marshall and J. H. Gillespie* Evaluation of a combined vaccine consisting of modified canine distemper virus and modified infectious canine hepatitis virus for simultaneous immunization of dogs. Cornell Vet., 48, 214, 1958.
6. *Cabasso, V. J.* Contributions of tissue culture to canine hepatitis and distemper vaccination. Jour. Amer. Vet. Med. Assoc, I, 136, 1960.
7. *Cabasso, V. J., R. L. Burkhardt, J. D. Leaming* . The use of an egg - adapted modified canine distemper virus vaccine under experimental conditions in the field. Vet. Med., Vol. 46, 167, 1951.
8. *Cabasso, and H. R. Cox.* propagation of canine distemper virus on the chorioallantoic membrane of embryonated hen eggs. Proc. Soc. Expt. Biol. and Med., 71, 246, 1949.
9. *Cabasso, V. J., K. H. Kiser, M. R. Stebbins, H. K. Cooper* . Canine distemper vaccine of tissue culture origin. Amer. Jour. Vet. Res., 23, 394, 1962.
10. *Cabasso, V. J., M. R. Stebbins, and H. R. Cox* . Experimental canine distemper encephalitis and immunization of puppies against it. Cornell Vet., 54, 153, 1954.
11. *Çeliker, A* . Köpeklerin gençlik hastalığı aşısı. Vet. Kont. ve Araş. Enst. Bornaova., 1957.
12. *Dunkin G. W., and P. P. Laidlaw* . Studies in dog distemper: The nature of the virus. Bul. de L. Inst. Pasteur., 170, 1927.
13. *Ertürk, E.* Ankara köpeklerinde görülen gençlik hastalığı ve epidemiologiesi üzerinde araştırmalar. Ankara Üniversitesi Vet. Fak. Der., 6, 4, 1960.
14. *Gillespie, J. H., J. A. Baker, J. Burgher, D. Robson, and B. Gilman* : The immun response of dogs to distemper virus. Cornell Vet., 48, 103, 1958.

15. *Gillespie, J. H., J. A. Baker, and Çeliker, A.* Immunity to distemper in dogs: Cornell University: Photocopie.
16. *Gillespie, J. H., and E. G. Richard.* Encephalitis in dogs produced by distemper virus. *Amer. Jour. Vet. Res.*, 17, 103, 1956.
17. *Gillespie, J. H., J. I. Robinson, and J. A. Baker.* Dual infection in dogs with distemper virus and of infectious canine hepatitis. *Proc. Soc. Expt. Biol. and Med.*, 81, 461, 1952.
18. *Hagan, W. A., and D. W. Bruner.* Infectious diseases of domestic animals. 1961.
19. *Haig, D. A.,* Further observations on the growth of Green's distemperoid virus in developing hen eggs. *South. Af. Vet. Med. Assoc.* 19, 73, 1948.
20. *Kalmar, E.* Personal Communication. 1961.
21. *Koprawski, H., G. A. Jervis, T. R. James, R. L. Burkhart, and G. C. Popeniec.* A study of canine encephalitis. *Amer. Jour. Hyg.*, 51, 63, 1950.
22. *Lennette, E. H.* Diagnostic procedures for virus and rickettsial diseases. *Computation of 50 percent end points.* 43, 1956.
23. *Ott, R. L., J. R. Gorham, and Y. E. Gutierrez.* Distemper in dogs II. The response to vaccination. *Amer. Jour. Vet. Res.*, 18, 375, 1957.
24. *Piercy, S. E.* An appraisal of the value and method of use of living attenuated canine distemper vaccines. *Vet. Rec.*, 73, 1944.