

İMMİNODİFFÜZYON TESTİ YARDIMI İLE NEWCASTLE HASTALIĞININ TEŞHİSİ ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR (*)

Serpil ÖZDAL

Elazığ Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü
Newcastle ve Tavuk Hastalıkları Laboratuvarı Şefi
Elazığ - TÜRKİE

GİRİŞ

İmmunodiffüzyon, yarı katı vasatta yürütülen bir presipitasyon reaksiyonudur. Ouchterlony (2) tarafından geliştirildiğinden beri virolojide geniş ölçüde kullanılmaktadır. Bu yöntem yardımı ile immünolojik ve epidemiyolojik araştırmalarda serumların antikor miktarının kantitatif olarak saptanması, herhangi bir virus preparasyonunun antijen miktarının kantitatif saptanması, doğrudan antijen tesbiti veya antikor kanıtı ile viral enfeksiyonların teşhisi, mümkün olabilmektedir.

Tavukların ve diğer evcil hayvanların viral hastalıklarının birçoğunun teşhisinde ve virusların tip veya alt tiplerinin identifikasyonunda da bu yöntemden yararlanılmaktadır. (1, 4, 5, 6, 7)

Paramyxoviridae ailesinde yer alan Newcastle virusu yüksek mortalite ile seyreden bir hastalığa sebep olmaktadır. Hastalığı geçirenler uzun süre kalan yüksek hemaglutinasyonu önleyici antikor titresine dayanılarak serolojik olarak saptanabilmektedir.

Ayrıca başarılı bir enfeksiyondan sonra enfekte olmuş hayvanların çoğunun serumlarında bulunan presipite edici antikor da immünodiffüzyon yöntemi ile saptanabilmektedir. Yapılan araştırmalarda enfeksiyondan 3-4 hafta sonra yüksek bir hemaglutinasyonu önleyici antikor titresini yanında presipite edici

(*) Bu araştırma, Veteriner İşleri Genel Müdürlüğü; Araştırma Konseyinin TH 80-6 Kod. No. lu projesine göre yapılmıştır.

antikorun varlığı ortaya konmuştur. Yükselen hemaglutinasyonu önleyici antikor titresine paralel olarak presipite edici antikor düzeyinin yükseldiği gözlemlendi.

Çalışmamızda bu yöntemin Newcastle hastalığının teşhisinde kullanılabilirliği ve Hİ titresini ile presipite edici antikor düzeyi arasındaki ilişki üzerinde durulacaktır.

MATERYAL VE METOD .:

1. Virus :

Denememizde Newcastle virusunun Roakin suşu kullanıldı. Antijen hazırlamak amacıyla allantois boşluğuna ekimi izleyen ikinci günde ölen embriyoların chorioallantois membranları alındı. Membranlar fosfatla tamponlanmış tuzlu su (PBS) ile üç defa yıkandılar. Hazırlanmış bu membranlar kullanılmaya dek -20°C de muhafaza edildiler.

2. Serum :

Denememizde; önceki yıllarda, Hİ titresini saptamak amacıyla yaptığımız araştırmada elde ettiğimiz serumlar kullanıldı. Bu serumlar; aşılardan sonraki iki haftalık aralarla her defasında rastgele seçilmiş 20 adet hayvanın kalbinden alınan kanlardan ayrılarak ayrı ayrı tüplerde -20°C de tutuldular.

İmmünodiffüzyon yöntemi .:

Agar gel aşağıdaki şekilde hazırlandı :

99 cc. % 8 lik tuzlu su içerisinde 1 gram (Difco agar) bırakılarak eritildi. Daha sonra çözülmemiş agar unsurlarının uzaklaştırılması için eriyik küçük devirde 2-3 dakika santrifüje edildi. PH 7,2'ye ayarlandıktan sonra otoklavda 120°C de 20 dakika tutularak sterilize edildi.

Hazırlanmış agar 10 cm. çapındaki petri kutularına 18-20 ml. olacak şekilde dağıtıldı. Katılaşmasından sonra 7 mm. çapındaki bir delici yardımı ile delikler açıldı. Çevrede bulunan deliklerin; merkezdekine uzaklığı 2 mm. idi. Her merkezdeki deliğin çevresine serum adedine göre 4 - 6 delik açıldı.

Antijen merkezdeki deliğe; kontrol edilen serumlar ise çevredeki deliklere konuldular. Daha sonra petri kutuları rutubet-

li ve 20-23°C de çalışan etüve bırakıldılar. Test sonucu her gün kontrol edilerek presipitasyon çizgisinin oluşup oluşmadığı izlendi. Genellikle antijen ve antikor aktivitesine bağlı kalmak şartıyla 2. günden sonra presipitasyon çizgileri görüldü.

Kontrol olarak 10-11 günlük enfekte edilmemiş chorioalantois membran, enfekte edilmiş gibi hazırlandı ve kullanıldı.

Değerlendirme : Çok bariz olan presipitasyon çizgisi (+ + +) biraz zayıf olanı (+ +), zayıfı ise (+) ile işaretlendi.

SONUÇ ve TARTIŞMA :

Denememizde bu yöntemin Hİ yöntemine nazaran daha az duyarlı olduğu ve yöntemin epidemiyolojik çalışmalarda ve antijen identifikasyonunda kullanılabileceği kanısına varıldı. Diğer taraftan daha önceden yapılan çalışmalarda belirtilen Hİ antikor titresi ile presipite edici antikor düzeyi arasındaki paralellik de saptandı. Denememizde 1/64 ve daha yüksek olan Hİ titrelerinde imminodiffüzyon testi ile pozitif sonuç alındı.

Ö Z E T

Deneysel olarak Newcastle virusunun Roakin suşu ile aşılanmış tavukların serumlarında presipite edici antikor saptandı. Hİ antikor titresi 1/64 den başlayan ve daha yüksek olan bütün serumlarda presipite edici antikor görüldü. Newcastle hastalığının serolojik tanısında Hİ testi İmminodiffüzyondan daha duyarlıdır.

ZUSAMMENFASSUNG

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE DIAGNOSE DER NEWCASTLE DISEASE MIT HILFE DES IMMUNODIFUSIONSVERFAHREN.

von

Serpil ÖZDAL

Die präzipitierende Antikörper wurde in Seren der Hühnern nach experimenteller Infektion mit dem Virusstamm «Roakin» der Newcastle disease - Virus festgestellt. Die Seren mit HAH-Titern ab 1/64 enthielten auch präzipitierende Antikörper Akti-

vitäten. Bei der serologische Diagnose der Newcastle disease war der Hemagglutinationshemmungstest empfindlicher als das Immunodiffusionsverfahren.

- 1 — **Bengelsdorff, J.H und Jaeger, O**, 1965. Beziehungen zwischen dem Auftreten haemagglutinationshemmender und präzipitierender Antikörper bei Hühnern nach verabreichung von Newcastle-Disease Virus. Zbl. 1 Abt. Bd. 196, 1.
- 2 — **Ouchterlony, Ö**. 1948. In vitro method for testing the toxinproducing capacity of diphtteria bacteria. Acta, Path. Microbiol. Scand. 25, 186.
- 3 — **Özdal, S.**, 1980. Newcastle hastalığına karşı Roakin suşu kullanılarak kas içi aşılama lar üzerinde araştırmalar. Vet. Hek. Dern. Dergisi 50 (1-2), 42.
- 4 — **Schoop, G. und Wachendörfer, G.**, 1960. Virusspezifische Präzipitation in agar-Diffusionsverfahren bei der Newcastle Krankheit der Hühner. Mh. Tierhkl. 12, 11.
- 5 — **Woernle, H.**, 1959. Diagnose der infektiösen Bronchitis der Hühner mit Hilfe der Präzipitationsreaktion im festen Agarmedium. Mh. Tierhkl. 11, 154.
- 6 — **Woernle, H. und Brunner, A.**, 1961. Präzipitationstest zur Diagnose der infektiösen Laryngotracheitis des Huhnes. Tierärztl. Umsch. 16, 245.
- 7 — **Woernle, H. Brunner, A. und Kussmaul, F. K.**, 1974. Nachweis aviärer Reoviren im Agar-gel Präzipitationstest. Tierärztl. Umsch, 29, 307