

NEWCASTLE HASTALIĞI VİRUSU (Hitchner B₁ Suşu) İLE ENFEKTE EDİLEN FARELERDE HEMAGGLUTINASYON - İNHİBİSYON TİTRELERİ ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR

Mustafa KAHRAMAN (*)

Ö Z E T

Denemeye alınan 60 adet bir aylık fareler üç eşit gruba ayrıldı. Virus (newcastle hastalığı virusu Hitchner B₁ suşu) 10 HAÜ/02 cc. miktarında subkutan olarak birinci gruba tek, ikinci gruba birer gün ara ile üç enjeksiyon yapıldı. Üçüncü grup kontrol olarak bırakıldı. Son enjeksiyondan 15 gün sonra hayvanların retroorbital plexus'undan kan alınarak serumları çıkarıldı ve Beta usulü hemagglutinasyon - inhibisyon testleri ile incelendi. Testlerde pozitif kontrol serum olarak aşı tavuk serumları kullanıldı.

Test sonuçlarına göre pozitif kontrol tavuk serumu 2⁻⁸ lik bir titre, üç inokulasyon yapılan fare serumlarından 2⁻⁷ titre elde edildi. Kontrol fare ve tek enjeksiyon yapılan fare serumlarından herhangi bir titre tespit edilmedi. Bu durum üç enjeksiyon yapılan farelerde humoral cevap oluşturacak düzeyde bir enfeksiyon meydana geldiğini göstermektedir.

S U M M A R Y

Studies on the titers of hemagglutination - inhibition
in mice which were infected with Hitchner B₁
Strain of newcastle disease virus.

Sixty mice, which were to be tested at a month of age, were divided into 3 equal groups. In the inoculations, Hitchner B₁ strain

(*) Doç. Dr; U.Ü. Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bursa-TURKEY.

of Newcastle virus was used. The mice in the first group were inoculated once whereas the ones in the second group three times at intervals a day. The third group was the control. Fifteen days after the last injection, blood was taken from the retroorbital plexus and serums were prepared and examined by means of Beta hemagglutination-Inhibition tests. In the tests, inoculated chicken serum was used as positive control.

According to the test results, the titers of the positive control and the second group were 2^{-8} and 2^{-7} , respectively. However no titer results were obtained from the control and first group.

These results show that an infection at a level to form humoral response appeared in the group of mice that were inoculated three times.

Key words : Newcastle disease.

GİRİŞ

Newcastle Hastalığı virusunun hemaglutine edici etkisini ilk defa Burnet (4) bildirmiştir. Virusun bu özelliğinden faydalanarak değişik usullerde hemagglutinasyon inhibisyon (HI) testleri geliştirilmiş ve teşhis vasıtası olarak kullanılmaya başlanmıştır. En çok da Bromtly ve ark. (3) bildirdikleri Beta usulü HI testi uygulanmaktadır. NC (newcastle) virusu farelere intracerebral, intranasal ve intravenöz verilirse toksik sonuçlar elde edildiği (6), yabani kuşlar gibi kemiricilerin hastalığın yayılmasında rolü olduğu (7), hatta bazı memelilerin bu arada fındık farelerinin ve diğer bir kısım laboratuvar hayvanlarının sun'i olarak enfeksiyona yakalanabilecekleri bildirilmekte ise de (1) farelerde bu virusa karşı humoral bir tepkinin meydana gelip gelmediği açıklanmamaktadır.

Bu araştırma NC virusu ile enfekte edilen farelerde herhangi bir hastalık semptomu ve hemagglutinasyonu inhibe edici antikorlarının bir humoral cevap olarak oluşup oluşmadığını ortaya koymak amacı ile planlanmıştır.

c — Bu pozisyonda aynı elin baş parmağı sağ kulak üzerine, işaret parmağı ense üzerine konularak fare ensesinden kavranır.

d — Ense derisi işaret parmağının iki distal falanks'ı ile baş parmak arasında sıkıca tutulur.

e — En sonunda geri kalan parmaklar normal duruma getirilerek fare el ayası içine gelecek şekilde ve farenin başı hafif sol tarafa döndürülerek sağ göz üst tarafa getirilir.

Bu durumda iken kulak arkasına baş parmakla hafif baskı uygulandığında göz plexus venleri kanla dolar, göz dışarı fırlar.

2) Pipet sağ ele alınır, yavaşça mediyalden göz yuvarlağının altından optik foramen'e doğru sokulur ve bu esnada eksenini etrafında çevrilir. Böylece plexus'un duvarı delinir, fakat kan hemen akmayabilir.

3) Damarı delme işleminden sonra pipet 1 mm kadar geri çekilir. Bu arada ucundaki lastik başlıkla vakumu yaptırılmış pipetin içine kan dolmaya başlar. Eğer kan görülmez ise kulak arkasındaki ven'e baskı uygulayarak işlem tamamlanır.

4) Pipet kan dolmaya başlayınca hareket ettirilmez ve kan seviyesinin yükselmesi durunca hafif hafif hareket ettirilir.

5) Kan tüpe boşaltıldıktan sonra pipet su dolu beher içerisine bırakılır.

Hemagglutinasyon (HA) Testi : Kullanılan virus süşunun Hemagglutinasyon gücünü ölçmek amacı ile bu test uygulandı.

Test, Arda (2)'nin bildirdiği metoda göre uygulandı. Virus fizyolojik su ile 1/2 (2^{-1}), 1/4 (2^{-2}), 1/8 (2^{-3}), 1/16 (2^{-4}) ... 1/1024 (2^{-10}). İki katlı olarak sulandırıldı ve tüplere 0,25 ml miktarında kondu. Virus sulandırmaları üzerine 0,5 ml fizyolojik su ilave edildi. Sonra tüplere üç defa yıkanmış ve fizyolojik su ile % 2 sulandırılmış tavuk eritrosit suspansiyonundan her tüpe 0,25 ml miktarında kondu. İyice karıştırılarak oda ısısında 45 dakika bırakıldı.

Hemagglutinasyon görülen son dilüsyon virusun titresini ve 1 HAÜ (hemagglutinasyon ünitesi) olarak kabul edildi.

Hemagglutinasyon - İnhibisyon (HI) Testi : Bu test newcastle virusunun tavuk eritrositleri aglutine etmesi ve bu aglutinas-

M A T E R Y A L V E M E T O D

Virus : Newcastle hastalığı virusu (NHV) Hitchner B₁ suşu Hemagglutinasyon gücü ölçülerek hem farelerin enfekte edilmesinde, hem de hemagglutinasyon - İnhibisyon testlerinde kullanıldı. İnokulasyonlarda virus 10 HAÜ/0,25 ml miktarında verildi.

Fare : Bir aylık beyaz fareler denemeye alındılar, hayvanlar U.Ü. Veteriner Fakültesinden temin edilmiştir.

Pozitif Serum : U.Ü. Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim dalından mevcut pozitif tavuklardan sağlanmıştır.

Serum : Denemeye sokulan hayvanlardan inokulasyon yapılmayanlardan kan alınarak serum çıkarıldı ve negatif kontrol serum olarak kullanıldı.

İnokulasyon yapılan hayvanlardan kan alınarak serum çıkarıldı ve şüpheli serum olarak denemeye sokuldu.

Virus İnokulasyonları : Denemelerde 60 fare kullanıldı. Hayvanlar üç eşit gruba ayrıldı ve ayrı kafeslere konuldu. Virus 10 HAÜ/0,25 ml miktarında birinci gruba tek, ikinci gruba birer gün ara ile üç subkutan enjeksiyonlar yapıldı. Üçüncü grup kontrol olarak bırakıldı. Son enjeksiyondan 15 gün sonra hayvanların retro-orbital plexus'undan kan alındı, serumları çıkarıldı ve hemagglutinasyon inhibisyon testlerine tabi tutuldular.

Kan Alma : (Retro-orbital plexus)

Gerekli Materyal : Küçük tüp (kan almak için), Kâğıt peçete, Lâstik pipet başlığı, Beherglass (250 ml) musluk suyu ile dolu Kan alma pipeti (pastör pipeti olabilir).

Metod :

1) Teknik Herbert (5)'in bildirdiği metoda göre aşağıdaki şekilde uygulanmıştır.

a — Fare kutusundan alınarak bir sıra üzerine konur, bu arada kuyruğundan sağ elle tutularak hareket etmesi önlenir.

b — Sol elin iki, üç, dördüncü parmaklarının tersiyle fare sırtından bastırılır, böylece fare hareketsiz kalır.

yonun hasta serumunda bulunan antikorlarla önlenmesi esasına dayanır. Uygulama Arda (2) bildirdiği metoda göre aşağıdaki şekilde tatbik edilmiştir. Şüpheli serumlar fizyolojik su ile iki katlı olarak 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32 ... 1/2048) sulandırıldı. Her sulandırılmadan 0,5 ml alınarak tüplere kondu. Bunların üzerine 8 HIAÜ de sabit tutulan virusdan 0,25 ml katılarak iyice karıştırıldı, oda ısısında 20 dakika bekletildi, sonra bunların üzerine yıkanmış ve % 2 sulandırılmış tavuk kanından 0,25 ml katılarak iyice karıştırıldı ve oda derecesinde 45 dakika bekletildi ve değerlendirildi.

S O N U Ç

Newcastle hastalığı virusu ile enfekte edilen hayvanlardan ve kontrollerden farklı sonuçlar alındı. Pozitif kontrol tavuk serumundan 2^{-8} lik bir titre, inokulasyon yapılmayan kontrol fare serumundan sıfır titre elde edilmesine karşın birer gün aralıklı 3 inokulasyon yapılan farelerin serumlarından ortalama 2^{-7} lik bir HI titresi elde edilmiştir. Tek inokulasyon yapılan hayvanlardan herhangi bir titre tespit edilmemiştir.

T A R T I Ş M A

NH virusu farelerin intracerebral, intravenöz ve intranasal inokule edildiğinde toksik etki yaptığını Upton ve Ark. (6) ları bildirmektedir. Yalçın (7) kemiricilerin hastalığı yaydığı, Akat ve Mayılmayıl (1) ise fındık farelerinin deneysel olarak enfekte edilebileceğini ileri sürmektedirler. Fakat tek veya birer gün aralıklı üç defa virus enjekte edilen hayvanlarda herhangi bir hastalık belirtisi tespit edilmedi. Hayvanların yemelerinde, içtikleri su miktarında ve vücut ısılarında bir değişiklik görülmedi. Genel semptom olarak tüylerde kabarma gözlemlendi. Bu durum iki sebebe bağlı olabilir. Birincisi inokule edilen virus süşunun patojen olmaması, diğeri inokulasyonların subkutan yapılmış olmasıdır. Ancak üç inokulasyon yapılan fare serumlarında pozitif tavuk serumlarındakine yakın bir hemagglutinasyon inhibisyon titresi elde edilmesi bu hayvanlarda bir eksperimental enfeksiyonun meydana gelebileceği fikrini (1) desteklemektedir. Enfekte hayvanlarda 2^{-7} lik he-

magglutinasyon inhibisyon titresi yapılan inokulasyona karşı bir humoral tepkimedir. NH virusuna karşı farelerde böyle bir humoral cevabın oluşabildiğine dair bilgiye literatürde rastlanmamıştır.

KAYNAKLAR

- 1 — AKAT, M. ve MAYILMAYIL, A. (1971) : Newcastle hastalığı, Bornova Vet. Araşt. Enst. Derg. Sayı : 20-21, 217-253.
- 2 — ARDA, M. (1976) : Hollanda'da Newcastle hastalığı üzerinde çalışmalar ve HI testinin yeni yöntemle göre değerlendirilmesi. Türk Vet. Hek. Derg. 46: 19-28.
- 3 — BRANDLY, C.A., HANSON, R.P., LEWIS, S.H., WINSLOW, N.S., HOYT, H.H., PRITCHARD, W.R., and NERLINGER, C.M. (1947) : Variables and correlations in laboratory procedures for newcastle disease diagnosis. Cornell Vet. 37: 324-336.
- 4 — BURNET, F.M. (1942) : The affinity of Newcastle disease virus to the influenza virus group. Austr. J. Exptl. Biol. Med. Sci, 20: 81-88.
- 5 — HERBERT, W.J. (1979) : Laboratory animal techniques for immunology. Handbook of Experimental immunoloji (application of Immunological Methods Vol. 3: A4.3 - A4.6.
- 6 — UPTON, E., LANDRON, R.P., DOW, D., and BRANDLY, C.A, (1953) : b. J. inject. Dis. 92: 175-182.
- 7 — YALÇIN, Ş. (1983) : Newcastle Hastalığı, Kanatlı hayvanların infeksiyon hastalıkları ve laboratuvar teşhis yöntemleri, Pendik Vet. Kont. ve Araşt. Enst. Yayınları No: 7.