

NEWCASTLE HASTALIĞINA KARŞI AŞILI TAVUKLARIN KAN SERUMU VE YUMURTA SARISINDAKİ HEMAGLUTİNASYONA MANİ OLUÇU ANTİKORLARIN KARŞILAŞTIRILMASI ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR

Emine GÜLER (*)

GİRİŞ

Newcastle hastalığı, kanatlıların çok bulaşıcı, öldürücü ve enfeksiyöz bir hastalığıdır. Enfeksiyon ilk defa 1926 yılında Kranaveld tarafından Doğu Hollanda Hindistanında kanatlılarda görülmüştür. Yurdumuza 1944 yılında girmiş ve tavukculuğumuzun gelişmesine büyük zararlar yapmıştır. Bulaşmanın çok çabuk olması enfeksiyonla yapılan savaşı da güçleştirmektedir. Enfeksiyonla savaşta en etkili yöntem kanatlıların aşılınmalarıdır.

Kanatlı hayvan yetiştiriciliğinin yapıldığı bütün yerlerde ekonomik kayıplara yol açan bir enfeksiyon olarak tanınmaktadır. Hastalığın, insan ve diğer hayvanlara da geçmesi bakımından ayrıca bir önemi vardır.

Avrupa, Asya, Avustralya ve Afrika'da hastalık, memleketimizde olduğu gibi, ekseri salgınlarda yüksek mortalite ile karakterize edilen, çabuk ölüm meydana getiren bir enfeksiyondur. Amerika'da ise, özellikle A.B.Devletlerinde, hafif ve mortalite oranı düşük bir enfeksiyon olarak görülür. Öldürücü olmayan bu salgınlarda görülen kayıplar daha az göze batıcı olmasına rağmen, yüksek derecede ölümler meydana getiren salgınlara kadar veya onlardan daha önemli ola-

(*) Etlik Hay. Hast. Araşt. Enst., Vet. Bakteriyolog.

bilirler. Sağ kalan civciv ve piliçler pek zayıf olarak gelişirler ve yemden az yararlanırlar. Kanatlılar arasında en büyük kayıp yumurta prodüksiyonunun azalması, kabuğun incelmeye, albümin bakımından kalitenin düşük olmasıdır. Hastalık döllenme kabiliyetini de etkiler.

Aşılama sonu elde edilecek bağışıklığı etkileyen birçok çevresel ve bireysel faktörler vardır. Hastalığın epidemiyolojik özelliklerine göre yapılan aşılamalarla elde edilen bağışıklığın kontrolü, hayvanları koruyacak seviyede antikorların bulunması, koruyucu aşılamalar yönünden önemli bir sorundur.

Gerek aşılama veya gerekse infeksiyon sonucu kanda bağışık antikorlarla birlikte Newcastle virusunun HA özelliğini inhibe eden immunglobulinlerin de meydana geldiği bilinmektedir.

Bağışıklığın kontrolünde en çok kullanılan yöntem Hemaglutinasyon-Inhibisyon (Hİ) testidir. Çabuk sonuç vermesi ve uygulanmasının kolay olması nedenleriyle yaygın bir kullanma alanı bulmuştur. Hİ testi, hayvanların kanındaki hemaglutinasyona mani olucu antikorların saptanması ve bunun yardımı ile hayvanların bağışıklık durumu hakkında bilgi vermesi bakımından da önem taşımaktadır.

Kan serumunda antikor aranması, kan alma esnasında kanatlılarda strese neden olması yüzünden hayvan sahiplerince tercih edilen bir yöntem olmamaktadır. Bunun yanı sıra uygulama zorluğu ve materyal temininde zaman kaybı nedenleriyle bu metod yerine Lübnan'da F.A.O. desteği ile kurulan Fanar Laboratuvarlarında «Yumurta Sarısında Antikor Arama Tekniği» geliştirilmiştir.

Bu çalışmada, Newcastle hastalığına karşı aşıları tavuklardaki bağışıklığın saptanmasında, kan serumu ile yumurta sarısındaki hemaglutinasyona mani olan antikorların karşılaştırması yapılarak, yumurta sarısının kan serumu yerine kullanılabilme olanağı incelenmiştir.

LİTERATÜR BİLGİSİ

Newcastle hastalığı kanatlı hayvanların bir virustan ileri gelen çok bulaşıcı ve yüksek derecede mortalite ile seyreden bir infeksiyonu olup, genellikle tavuk ve hindilerde hastalıklara neden olur. Bu infeksiyon ilk olarak 1926 yılında Kraneveld tarafından çok bulaşıcı ve öldürücü bir infeksiyon olarak saptanmış ve aynı yılda Doyle is-

mindeki araştırıcı İngiltere'de Newcastle kasabasında hastalığı tespit ederek ve hastalığın görüldüğü yerin ismine izafeten Newcastle adını vermiştir. İnfeksiyonun daha sonraları birçok dünya ülkesinde görüldüğü saptanmıştır. Türkiye'de hastalığın ilk olarak 1944 yılında geniş bulaşmalara neden olduğu ve sonraları ülke çapında uygulanan aşı programı ile hastalığın kontrol altına alınmasına çalışıldığı bildirilmiştir (3, 6).

Hastalığın etkeni filtreleri geçen ve tavuk vebası virusundan antijenik olarak ayrılan bir virustur. Bu virus, myxovirusların paramyxovirüs grubunda yer almaktadır. Virusun en önemli özelliği tavuk, kaz, koyun, keçi, sığır, köpek ve domuz eritrositlerini aglutine etme yeteneğine sahip olmasıdır (1, 6, 8, 14). Virusun bu özelliği bağışık serumlardaki spesifik antikorlarla nlenebilir (6). Virusun veya antikorların bu özellikleri, Newcastle hastalığının serolojik teşhisinde temel olmaktadır.

Newcastle virusu duyarlı organizmalarda, hemaglutinasyona mani olucu, virusu nötralize edici, komplementi bağlayıcı ve presipitan antikorların oluşmasına sebep olmaktadır (15).

Newcastle hastalığının teşhisi şüpheli materyallerden virus izolasyonu, identifikasyonu ve serolojik metodlar ile yapılmaktadır.

Fluoresan antikor tekniği Newcastle hastalığı virusunun identifikasyonunda kullanılan çok duyarlı ve çabuk sonuç veren bir methoddur. Viruslu materyal, konjuge edilmiş serum ile birleştirilip fluoresans mikroskop altında incelendiğinde viruslar fluoresans gösterir (6).

Newcastle hastalığını geçirmiş veya aşılanmış tavuklarda, virusu nötralize edici antikorları, serum nötralizasyon testi ile (SN-Testi) saptayarak hastalığın teşhisi yapılabilir (19). Bu test embriyolu yumurtada, doku kültüründe ve duyarlı tavuklarda uygulanan, Newcastle hastalığı virusunun identifiye edilmesini sağlayan testlerdir. Nötralizasyon testi doku kültüründe «Plak Nötralizasyon» testi olarak uygulanır. SN-testi embriyolu yumurtalarda da uygulanabilir. Ancak steril serum elde etmek güç olduğu gibi pahalı ve zaman alıcı bir tekniktir (6). Newcastle hastalığına karşı bağışık tavuk yumurtalarının sarılarında, virusu nötralize eden özel antikorlar bulunmuştur (7).

Serolojik teşhiste Hemaglutinasyon Testinin (HA-Test) pratik değeri vardır. HA-Testi üzerinde ilk olarak Hirst (17) çalışmıştır. HA-Testi, plate metodu olarak lam üzerinde (çabuk HA-Test), tüplerde (yavaş HA-Test) yapılabilir.

Hemaglutinasyona mani olucu antikorların Hemaglutinasyon - İnhibisyon testi (Hİ-Testi) ile saptanması pratik önem taşır. Hİ-testinin uygulanmasında klasik 2 metod vardır. Bunlardan birincisi α -Metodu'dur. Bu metod'ta bir seri tüp alınır. Birinci tüpe 0.4 ml., diğer tüplere 0.25 ml FTS (0.85 %) konur. Birinci tüpe 0.1 ml virus ilave edilir. Pipetle karıştırılıp 0.25 ml 2. tüpe aktarılır. Aktarma işlemi son tüpe kadar yapılır, son tüpten 0.25 ml dışarı atılır. Bütün tüplere 0.25 ml 1/5 oranında sulandırılmış serum katılır. Bütün tüplere 0.25 ml % 0.5'lik eritrosit süspansiyonu ilave edilir. 45-60 dk. sonra değerlendirme yapılır. β -Metodu'nda da bir seri tüp alınır. 1. tüpe 0.8 ml, diğer tüplere 0.5 ml FTS konur. 1. tüpe 0.2 ml serum konur, karıştırılır, 2. tüpe 0.5 ml aktarılır. Aktarma işlemi son tüpe kadar yapılır, son tüpten 0.5 ml atılır. Bütün tüplere HA ünitesi tespit edilmiş virus konsantrasyonundan (10 HA ünitesinde) ve % 1'lik eritrosit süspansiyonundan 0.25 ml ilave edilir. 45-60 dk. sonra değerlendirme yapılır. (12, 18). Bilinen klasik yöntemlerden ayrı olarak Hollanda Metodu HA ve Hİ testlerinde uygulanmaktadır. Bu yöntemde bir seri tüp alınır, bütün tüplere 0.5 ml FTS konur. Birinci tüpe 0.5 serum ilave edilir, karıştırılır, ikinci tüpe 0.5 ml aktarılır. Aktarma işlemi son tüpe kadar yapılır, son tüpten 0.5 ml atılır. Bütün tüplere 8 HA ünitesinde sabit tutulmuş virustan 0.25 ml ilave edilir. 20 dk. beklenir, sonra % 1'lik eritrosit süspansiyonundan 0.25 ml bütün tüplere ilave edilir. 45-60 dk. sonra değerlendirme yapılır. Bu metodta $\log_2$ tabanına uyabilen sulandırılması yapılmakta ve bunların $\log_2$ tabanına göre değerleride sıra ile —1, —2, —3, —12 olmaktadır (4).

Son yıllarda, Hİ-Testinin uygulanmasında yeni bir değişiklik de «Mikroteknik Yöntemi»dir. Bu yöntemde kısa sürede çok sayıda serumun Hİ titresi saptanabilmektedir. Ayrıca mikroteknikte daha az miktarda virus, kan, serum, fizyolojik tuzlu su kullanılmakta ve bunların konulması aletler aracılığıyla çok kısa süre içinde yapılmaktadır (3, 4, 9, 11).

Makro ve mikro metodlar klasik Hİ-testi kullanılarak karşılaştırılmıştır. Her iki metodda da aynı sonuçlar bulunmuştur (3).

Newcastle hastalığını geçirmiş veya aşıllı tavuklarda hemaglutinasyona mani olan antikorların Hİ testi ile saptanması için kan serumu ve yumurta sarısı kullanılabilir. Yumurta sarısının, yavruya maternal bağışıklığı geçiren bir vasıta olduğu açıklanmıştır (5, 7, 16, 24, 25, 27).

Hemaglutinasyona mani olan antikorları saptamak için, Hİ testinde yumurta sarısını ilk defa Schmittle tarafından kullanılmıştır. Deneyden önce yumurta sarısı Ethylen dichloride ve Ether ekstraksiyonuna tabi tutulmuştur (23). Sonraları yağ çözücü olarak chloroform ve carbontetrachloride denenmiş fakat sıvı fraksiyonu emülsiyondan ayırmak mümkün olmamıştır. Bu durumda serum ve yumurta sarısı Hİ-titreleri birbirini tutmamıştır. Yumurta sarısında Hİ-titreleri daha yüksektir. Titredeki bu yükseklik yumurta sarısına albumin karışmasındandır (23). Bazı araştırmacıların yaptıkları çalışmalar, Hİ-testinde yumurta sarısının, yağın solventlerle çıkarılmasına gerek kalmadan kullanılabileceğini göstermiştir (5, 10, 13, 16, 24, 26, 27). Hİ'da albuminin virus aglutinasyonunu önlediği bilinmektedir. Albuminle kontamine olmuş yumurta sarısının, myxoviruslara karşı nonspesifik hemaglutinasyon-inhibisyon verdiği saptanmıştır (7, 10, 24).

Koyun eritrositleri enjekte edilmiş yumurtacı tavukların serum antikor titreleri, aynı tavukların yumurta sarısındaki antikor titrelerinden daha yüksekte bulunmuştur. Aynı tavuğun serum ve yumurta sarısı antikor düzeyleri arasında 1:8 oranında bir ilişki bulunduğunu bildirmişlerdir (16).

Yumurtacı sürülerdeki bağışıklık derecesi her zaman Hİ-testi ile tespit edilebilir. Ancak, Hitchner ve La Sota içme suyu aşısı ile aşılandıktan en az 18 gün sonra testle antikorların saptanabileceği bildirilmiştir. Bazı araştırmacılara göre, serum ve yumurta sarısındaki hemaglutinasyona mani olucu antikor titreleri, her tavukta birbirine çok yakındır (10, 13).

Aşıllı 22 tavuk kullanılarak yapılan bir denemede, yumurta sarısı ile kan serumu Hİ-titreleri arasında 17 tavukta istatistiki bakımdan bir uyum bulmalarına karşın, 5 tavukta istatistiki sapma tespit edilmiştir (24). Deney süresi 91 gün olan bir araştırmada, yumurta ve günlük civciv serum Hİ-titrelerinin, tavukların aynı günkü serum titrelerine eşit veya biraz düşük, denemenin son haftasında yumurta sarısı titresi ve günlük civciv serum titrelerinin çoğunun, yumurtaları yumurtlayan tavukların serum titrelerinden daha yüksek olduğu tes-

pit edilmiştir (16). Aşıli 10 tavuk kullanılarak yapılan başka bir denemede ise yumurta sarısı ile kan serumu HI-titreleri arasında 3 tavukta uyum görülmüş, 5 tavukta ise yumurta sarıları titreleri daha yüksek bulunmuştur. 2 tavuk deneme süresinde hiç yumurtlamadığı için bir karşılaştırma yapılmamıştır. Yumurta sarısında, kan serumuna göre tespit edilen yüksek titre, yumurta sarısında HI-antikorları dışında non-spesifik HI veren birtakım faktörlerin olabileceğini göstermiştir (19).

MATERYAL ve METOT

Tavuklar : Bu çalışmada, 10 adet 5 aylık beyaz Shaver ve 10 adet aynı yaşta kırmızı welp-line tavuklar kullanıldı. Tavuklar İzmir Akhisar'daki özel çiftliklerden temin edildi. Kontrol olarak kullanılan aşısız 20 adet Leghorn tavuklar ise Bornova Vet. Kont. ve Araşt. Enstitüsü Aşı Kontrol ünitesinden temin edildi.

Tavuklar bir beyaz, bir kırmızı olmak üzere ikişer ikişer kafeslere kondu ve numaralandı. Deneme süresince tavuklar İzmir Vitaminli Yem'den sağlanan tavuk yemi ile beslendiler.

Newcastle Antijeni : HA ve HI testlerinde Roakin suşu kullanıldı. Roakin suşu yumurta pasajından geçirildi ve HA ünitesi saptandı. Küçük aşı şişelerine taksim edilerek deneme süresince dipfrizde saklandı.

Serumlar : Son aşılamadan 20 gün sonra tavukların kanları alındı, serumları ayrıldı. bu serum örnekleri HI-testi ile muayene edildi. Aynı işleme 20'şer gün aralıklarla devam edildi ve 106 gün süren deneme süresince beyaz tavuklardan 60, kırmızı tavuklardan 60 adet olmak üzere 120 adet serumun yoklaması yapıldı.

Yumurta sarıları : Son aşılamadan 20 gün sonra yumurtlayan beyaz ve kırmızı tavukların yumurtaları hergün HI- yönünden yoklamaları yapıldı. 106 gün devam eden deneme süresince beyaz tavuklardan 461 adet, kırmızı tavuklardan 576 adet olmak üzere 1037 adet yumurta sarısı örneği işlendi.

Aşılama : Denemeye alınan Shaver beyaz tavuklar, 14. günde içme suyu (tam doz HB₁), 31. günde içme suyu (1/2 doz La Sota), 46. günde içme suyu (tam doz La Sota) ve 71. günde spray (tam doz La Sota) aşısı ile, kırmızı tavuklar ise 7. günde spray (1/2 doz HB₁), 21. günde spray (tam doz HB₁), 45. günde spray (tam doz La Sota) aşısı ile aşılandılar. Tavukların kan serumundaki Hemaglutinasyona mani olucu antikor düzeyi Hİ testi ile saptandı. Antikor titreleri log₂ tabanına göre değerlendirmede beyaz tavuklarda ortalama 6.2, kırmızı tavuklarda 7.5 bulunduğu ve aşı protokolüne göre bağışıklık düzeyleri yetersiz olduğundan tavuklara rapel spray (tam doz La Sota) aşısı yapıldı. (beyaz tavuklar 155., kırmızı tavuklar 143. günlükte)

Yumurta sarısı emülsiyonunun hazırlanması : Öğleden önce yumurtlanan yumurtalar o gün öğleden sonra, öğleden sonra yumurtlanan yumurtalar ise ertesi gün öğleden sonra denemeye alındı. Numaralanmış olan yumurtalar viollelere kondu. Yumurtalar tek tek kırılarak ve yumurta sarısı iki yarım yumurta kabuğu arasında aktarılacak suretiyle akı ayrıldı. Sapına şişe mantarı takılmış kahve kaşığı kızarıncaya kadar ısıtıldı, yumurta sarıları üzerine değdirilmek suretiyle üzerlerinde kalan yumurta aklarında alındı. Yumurta sarısından 1 ml alınıp 4 ml FTS ile 1/5'lik dilusyonu elde edildi. Bu dilusyon 5 dk. elde çalkalanıp 5000 dev./dk. ile 5 dak. santrifüj edildikten sonra Hİ testlerinde kullanıldı.

Eritrosit süspansiyonu : Enstitü'de bulunan ve bu test için ayrılan horozlardan, V.cutanea ulnaris'ten sitratlı kan alınarak, fizyolojik tuzlu su ile 3 defa yıkanıp % 2'lik süspansiyonu kullanıldı.

Serolojik testler :

- a) Hemaglutinasyon testi (HA-testi) : Bu test, virusun iki katlı (1:2, 1:4, 1:8 1:1024) sulandırılması esasına göre yapıldı (4, 22).
- b) Hemaglutinasyon-Inhibisyon testi (HI-testi) : Bu test Roepkenin bildirdiği yöntemine göre yapılmıştır (22).

B U L G U L A R

Kan serumu Hİ-testi bulguları

Beyaz tavukların 5. aşılmasından, kırmızı tavukların 4. aşılmasından önce kan serumlarında hemaglutinasyona mani olucu antikor düzeyleri Hİ testi ile saptandı. Beyaz tavuklarda ortalama 2 log 6.2; kırmızı tavuklarda ortalama 2 log 7.5 olarak tespit edildi. Tavuklara aşılama yapıldı. Bu aşılamaadan 20 gün sonra yapılan ilk Hİ testinde bütün tavukların serum titrelerinde bir yükselme gözlemlendi. Beyaz tavuklarda ortalama 2 log 12.6; kırmızı tavuklarda ortalama 2 log 11.3 olarak tespit edildi.

6 kez 20 gün ara ile tavuklardan kan alınıp Hİ titreleri tespit edildi ve bulgular aşağıda verildi, grafiklerde de gösterildi.

- Beyaz tavuk No 1 : Kan serumu Hİ titreleri 2 log 11, 11, 10, 11, 10, 10 olup ortalama titre 2 log 10.5. Grafik No 1.
- Beyaz tavuk No 2 : Kan serumu Hİ titreleri 2 log 13, 13, 13, 13, 12, 12 olup ortalama titre 2 log 12.6. Grafik No 2.
- Beyaz tavuk No 3 : Kan serumu Hİ titreleri 2 log 13, 13, 12, 13, 11, 11 olup ortalama titre 2 log 12.6. Grafik No 3.
- Beyaz tavuk No 4 : Kan serumu Hİ titreleri 2 log 13, 13, 12, 13, 11, 11 olup ortalama titre 2 log 12.1. Grafik No 4.
- Beyaz tavuk No 5 : Kan serumu Hİ titreleri 2 log 13, 13, 12, 12, 11, 11 olup ortalama titre 2 log 12. Grafik No 5.
- Beyaz tavuk No 6 : Kan serumu Hİ titreleri 2 log 12, 12, 11, 10, 10, 10 olup ortalama titre 2 log 10.8. Grafik No 6.
- Beyaz tavuk No 7 : Kan serumu Hİ titreleri 2 log 13, 13, 12, 13, 12, 12 olup ortalama titre 2 log 12.5. Grafik No 7.

Beyaz tavuk No 8 : Kan serumu H_i titreleri 2 log 13, 13, 13, 13, 12, 12 olup ortalama titre 2 log 12.8. Grafik No 8.

Beyaz tavuk No 9 : Kan serumu H_i titreleri 2 log 13, 13, 12, 11, 12, 11 olup ortalama titre 2 log 12. Grafik No 9.

Beyaz tavuk No 10 : Kan serumu H_i titreleri 2 log 12, 12, 11, 11, 10, 9 olup ortalama titre 2 log 10.8. Grafik No 10.

Beyaz tavukların kan serumlarındaki titreler denemenin 20. gününde en yüksek düzeye ulaşmış ve bu titreler tavukların 8'inde 46. günden, 2'inde 86. günden sonra düşmeye başlamıştır.

Kırmızı tavuk No 1 : Kan serumu H_i titreleri 2 log 12, 12, 11, 11, 10, 10 olup ortalama titre 2 log 11. Grafik No 11.

Kırmızı tavuk No 2 : Kan serumu H_i titreleri 2 log 10, 10, 9, 10, 9, 8 olup ortalama titre 2 log 9.3. Grafik No 12.

Kırmızı tavuk No 3 : Kan serumu H_i titreleri 2 log 13, 13, 12, 12, 11, 11 olup ortalama titre 2 log 12. Grafik No 13.

Kırmızı tavuk No 4 : Kan serumu H_i titreleri 2 log 10, 10, 9, 9, 9, 8 olup ortalama titre 2 log 9.1. Grafik No 14.

Kırmızı tavuk No 5 : Kan serumu H_i titreleri 2 log 12, 12, 11, 11, 11, 10 olup ortalama titre 2 log 11.1. Grafik No 15.

Kırmızı tavuk No 6 : Kan serumu H_i titreleri 2 log 12, 11, 10, 10, 10, 9 olup ortalama titre 2 log 10.3. Grafik No 16.

Kırmızı tavuk No 7 : Kan serumu H_i titreleri 2 log 12, 13, 12, 12, 11, 10 olup ortalama titre 2 log 11.6. Grafik No 17.

Kırmızı tavuk No 8 : Kan serumu H_i titreleri 2 log 9, 9, 9, 10, 8, 9 olup ortalama titre 2 log 9. Grafik No 18.

Kırmızı tavuk No 9 : Kan serumu Hİ titreleri 2 log 12, 11, 10, 10, 10, 7 olup ortalama titre 2 log 10. Grafik No 19.

Kırmızı tavuk No 10 : Kan serumu Hİ titreleri 2 log 11, 11, 10, 10, 10, 9 olup ortalama titre 2 log 10.1. Grafik No 20.

Kırmızı tavukların kan serumlarındaki titreler tavukların 8'inde denemenin 20. gününde, 1'inde 46. gününde, 1'inde 86. gününde en yüksek düzeye ulaşmıştır. Bu titreler tavukların 2'inde 20. günden, 7'inde 46. günden, 1'inde 86. günden sonra düşmeye başlamıştır.

Kontrol olarak işlenen 20 adet kan serumundan 11 tanesinin titresi ≤ 4 olmasına karşın, 6 tanesi 2 log 5, 3 tanesi 2 log 6 titre vermiştir. Bu titreler < 7.5 olduğu için negatif olarak kabul edilmiştir.

Yumurta sarısı Hİ testi bulguları

Tavukların 20 günlük periyotlarda yumurtladıkları yumurtalardan hergün Hİ testi yapılmıştır. 20 günlük periyotlardaki günlük yumurta sarısı Hİ titreleri toplanmış ve yumurta adedine bölünerek bir periyottaki ortalama Hİ titreleri bulunmuştur. Ayrıca her periyottaki ortalama Hİ titreleri toplanmış ve periyot adedine bölünerek tavukların 106 günlük deneme süresindeki yumurta sarısı ortalama Hİ titresi bulunmuştur. Bulgular aşağıda ve grafiklerde de gösterilmiştir.

Beyaz tavuk No 1 : Yumurta sarısı ortalama Hİ titreleri 2 log 8.8, 8, 7.2, 8.1, 8.3, 8 olup deneme süresindeki ortalama titre 2 log 8.6. Grafik No 1.

Beyaz tavuk No 2 : Yumurta sarısı ortalama Hİ titreleri 2 log 11.6, 10.9, 9.8, 10.8, 10.7 olup deneme süresindeki ortalama titre 2 log 8.9. Grafik No 2.

Beyaz tavuk No 3 : Yumurta sarısı ortalama Hİ titreleri 2 log 11.2, 10.2, 9.4, 10 olup deneme süresindeki ortalama titre 2 log 10.2. Grafik No 3.

Beyaz tavuk No 4 : Yumurta sarısı ortalama Hİ titreleri 2 log 11, 10.7, 9.2, 10, 10.2, 9 olup deneme süresindeki ortalama titre 2 log 10.3. Grafik No 4.

- Beyaz tavuk No 5 : Yumurta sarısı ortalama H_i titreleri 2 log 11.1, 10, 9.3, 10, 10.3 olup deneme süresindeki ortalama titre 2 log 10.1. Grafik No 5.
- Beyaz tavuk No 6 : Yumurta sarısı ortalama H_i titreleri 2 log 10.9, 9.7, 8.3, 9.8 olup deneme süresindeki ortalama titre 2 log 9.6. Grafik No 6.
- Beyaz tavuk No 7 : Yumurta sarısı ortalama H_i titreleri 2 log 11.3, 10.3, 9.3, 10.1, 10.5 olup deneme süresindeki ortalama titre 2 log 10.3. Grafik No 7.
- Beyaz tavuk No 8 : Yumurta sarısı ortalama H_i titreleri 2 log 12.4, 11, 9, 10.5 olup deneme süresindeki ortalama titre 2 log 10.7. Grafik No 8.
- Beyaz tavuk No 9 : Yumurta sarısı ortalama H_i titreleri 2 log 11.6, 10.4, 9.3, 10, 9.6 olup deneme süresindeki ortalama titre 2 log 10.1. Grafik No 9.
- Beyaz tavuk No 10 : Yumurta sarısı ortalama H_i titreleri 2 log 10.5, 9, 8.1, 8.8, 8 olup deneme süresindeki ortalama titre 2 log 8.8. Grafik No 10.
- Kırmızı tavuk No 1 : Yumurta sarısı ortalama H_i titreleri 2 log 9.6, 9.6, 8.3, 9, 9.3 olup deneme süresindeki ortalama titre 2 log 9.1. Grafik No 11.
- Kırmızı tavuk No 2 : Yumurta sarısı ortalama H_i titreleri 2 log 7.8, 7.3, 6.7, 7.4, 6 olup deneme süresindeki ortalama titre 2 log 6.9. Grafik No 12.
- Kırmızı tavuk No 3 : Yumurta sarısı ortalama H_i titreleri 2 log 10.7, 9.6, 8.8, 9.5, 10.7 olup deneme süresindeki ortalama titre 2 log 9.8. Grafik No 13.
- Kırmızı tavuk No 4 : Yumurta sarısı ortalama H_i titreleri 2 log 8.1, 7, 6.8, 7, 7.4, 6 olup deneme süresindeki ortalama titre 2 log 7.5. Grafik No 14.
- Kırmızı tavuk No 5 : Yumurta sarısı ortalama H_i titreleri 2 log 10.2, 9.2, 8.4, 9.5, 9.7, 9 olup deneme süresindeki ortalama titre 2 log 9.3. Grafik No 15.

Kırmızı tavuk No 6 : Yumurta sarısı ortalama HI titreleri 2 log 9.3, 9, 7.7, 8.9, 9.2, 8 olup deneme süresindeki ortalama titre 2 log 8.6. Grafik No 16.

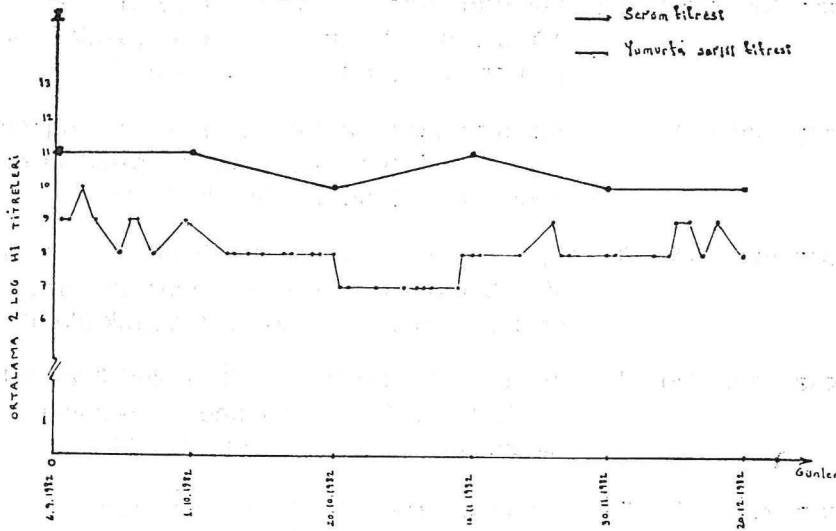
Kırmızı tavuk No 7 : Yumurta sarısı ortalama HI titreleri 2 log 11.6, 9.6, 8.5, 9.5, 9.6, 9 olup deneme süresindeki ortalama titre 2 log 8.8. Grafik No 17.

Kırmızı tavuk No 8 : Yumurta sarısı ortalama HI titreleri 2 log 7.1, 6.7, 4.9, 5.8, 6.5 olup deneme süresindeki ortalama titre 2 log 6.2. Grafik No 18.

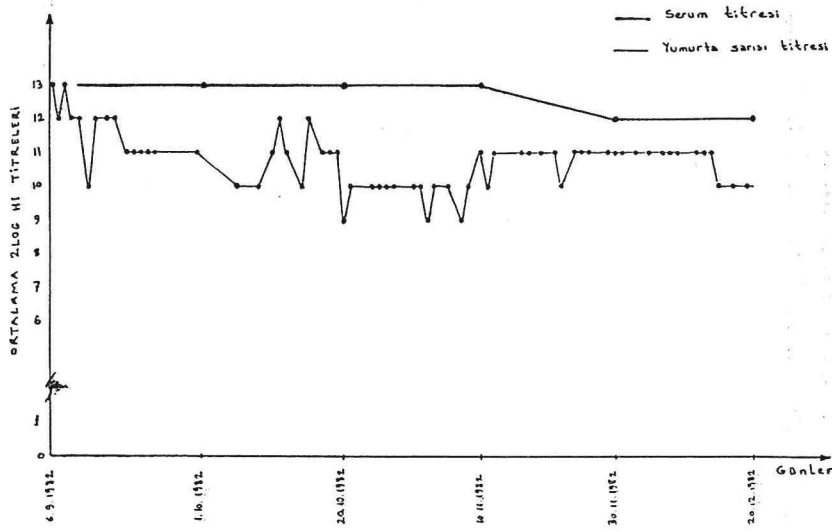
Kırmızı tavuk No 9 : Yumurta sarısı ortalama HI titreleri 2 log 9.4, 8.5, 7.3, 8, 8.5, 8 olup deneme süresindeki ortalama titre 2 log 8.2. Grafik No 19.

Kırmızı tavuk No 10 : Yumurta sarısı ortalama HI titreleri 2 log 9.3, 8.6, 7.4, 8.3, 8.8 olup deneme süresindeki ortalama titre 2 log 8.4. Grafik No 20.

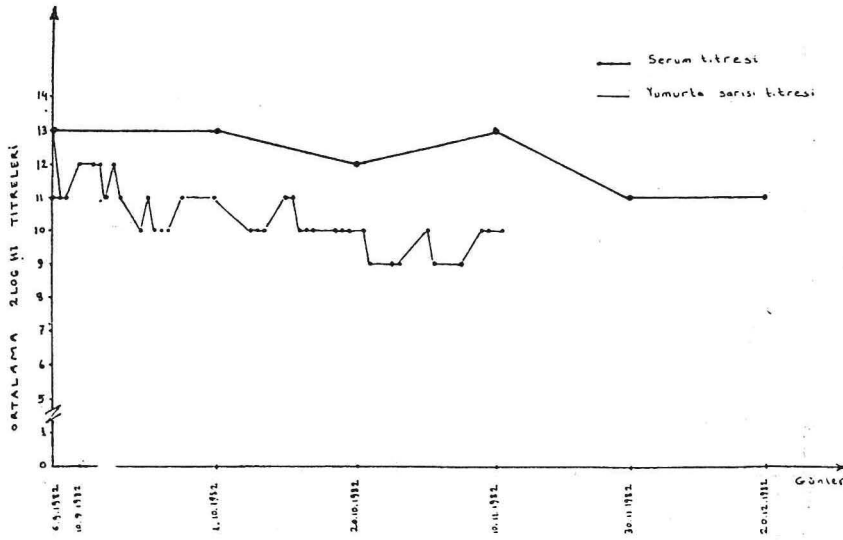
Kontrol olarak işlenen 20 adet yumurta sarısının 13 tanesinin titresi ≤ 4 olmasına karşın, 5 tanesi 2 log 5, 2 tanesi 2 log 6 titre vermiştir. Hepsinin yumurta sarısı titresi < 7.5 olduğundan, kontrol hayvanların yumurta sarısı titreleri negatif olarak değerlendirilmiştir.



BEYAZ TAVUK No: 1 (6.9.1982 - 20.12.1982)

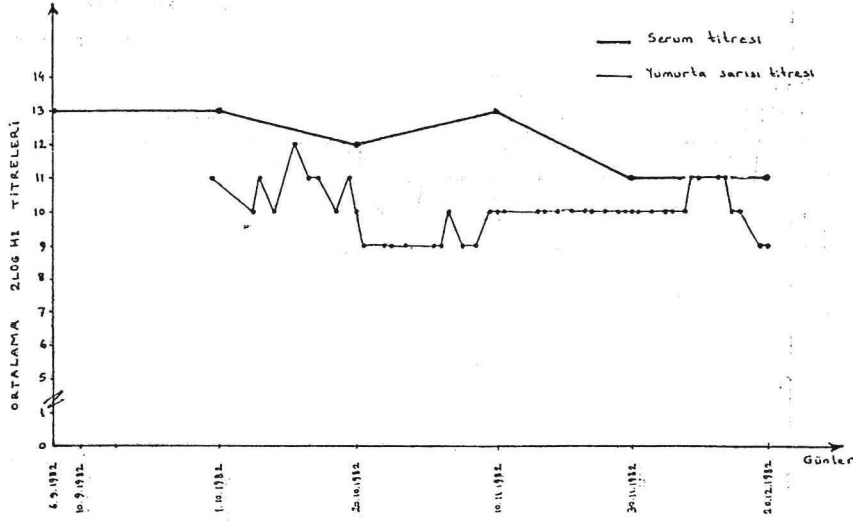


BEYAZ TAVUK No: 2 (6.9.1982 - 20.12.1982)

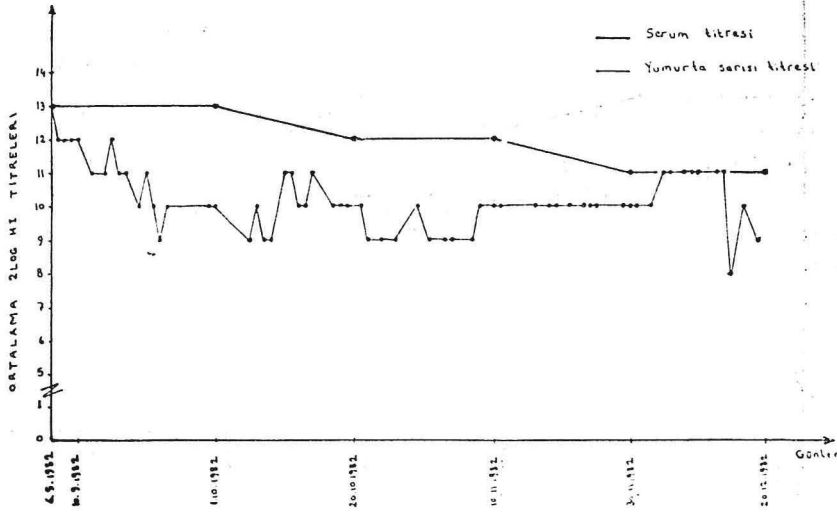


BEYAZ TAVUK No: 3 (6.9.1982 - 20.12.1982)

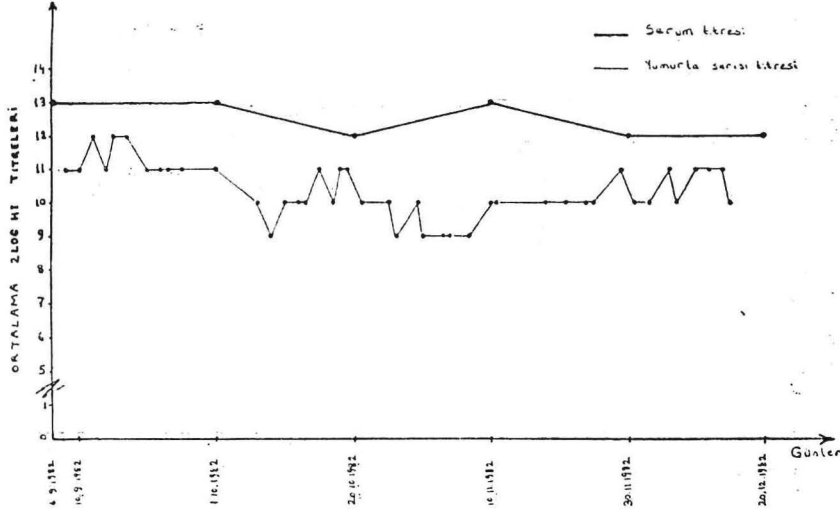
Newcastle hastalığına karşı aşıli tavuklar - Güler



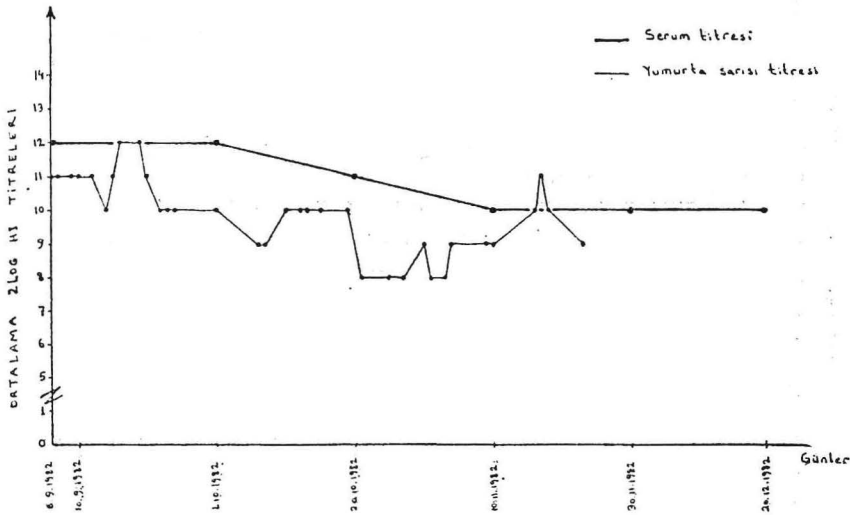
BEYAZ TAVUK No: 4 (6.9.1982 - 20.12.1982).



BEYAZ TAVUK No: 5 (6.9.1982 - 20.12.1982)

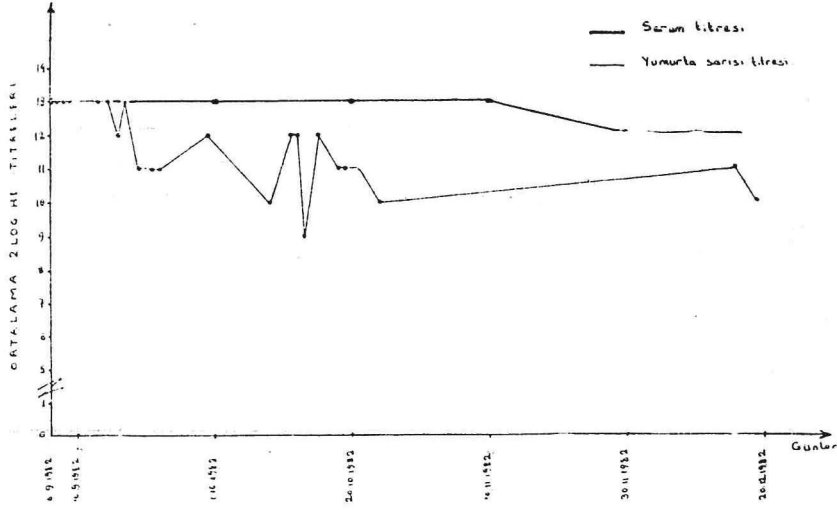


BEYAZ TAVUK No: 6 (6.9.1982 - 20.12.1982)

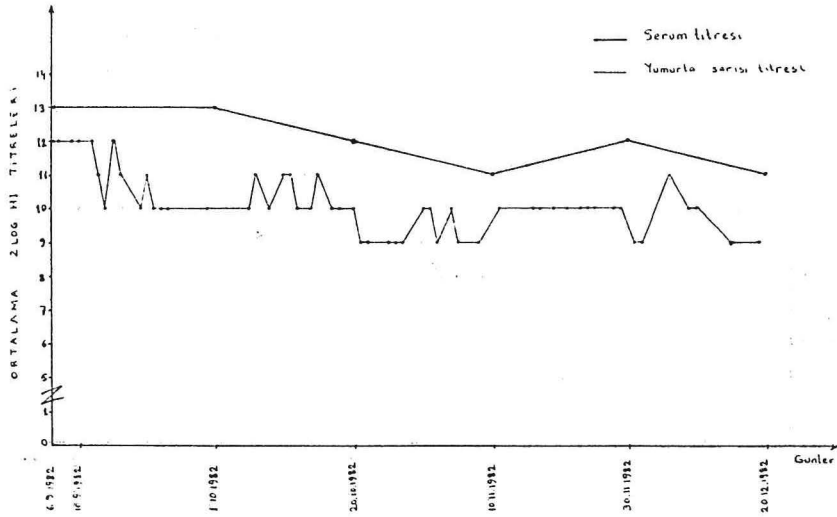


BEYAZ TAVUK No: 7 (6.9.1982 - 20.12.1982)

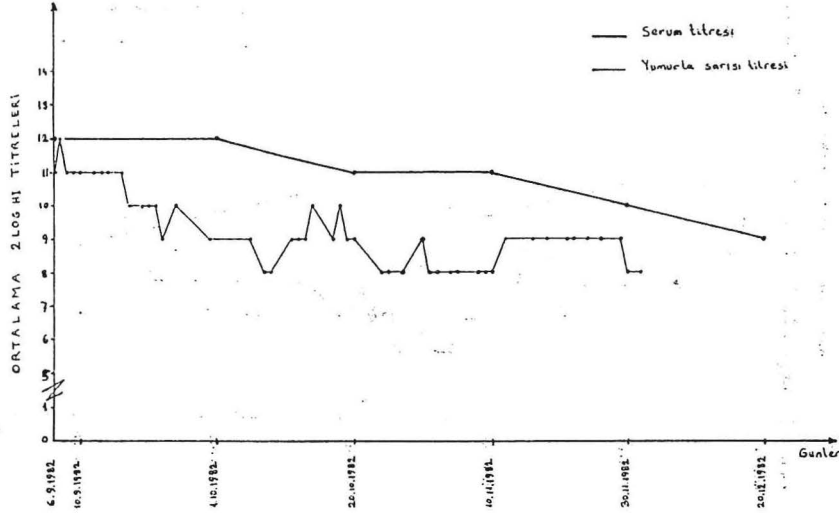
Newcastle hastalığına karşı aşıli tavuklar - Güler



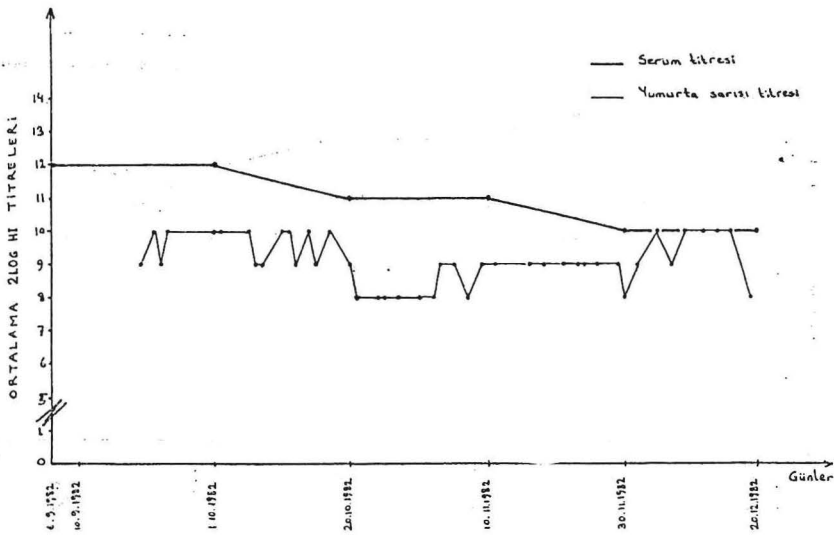
BEYAZ TAVUK No: 8 (6.9.1982 - 20.12.1982)



BEYAZ TAVUK No: 9 (6.9.1982 - 20.12.1982)

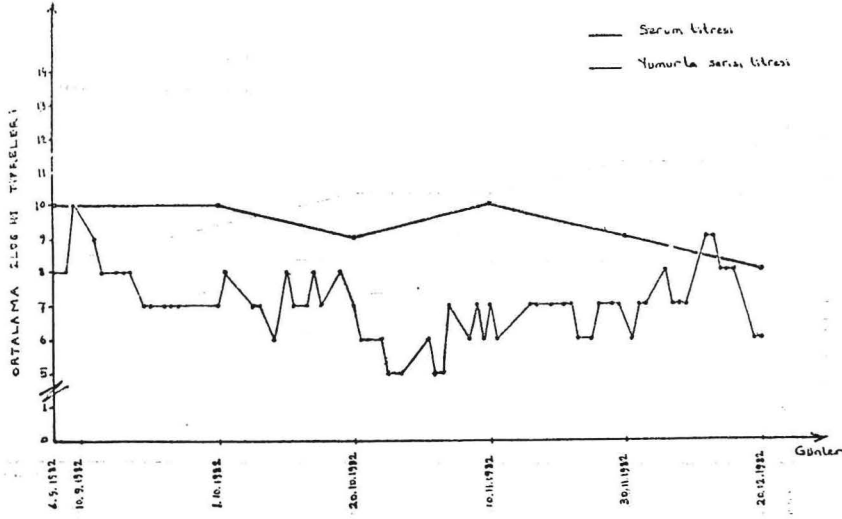


BEYAZ TAVUK No: 10 (6.9.1982 - 20.12.1982)

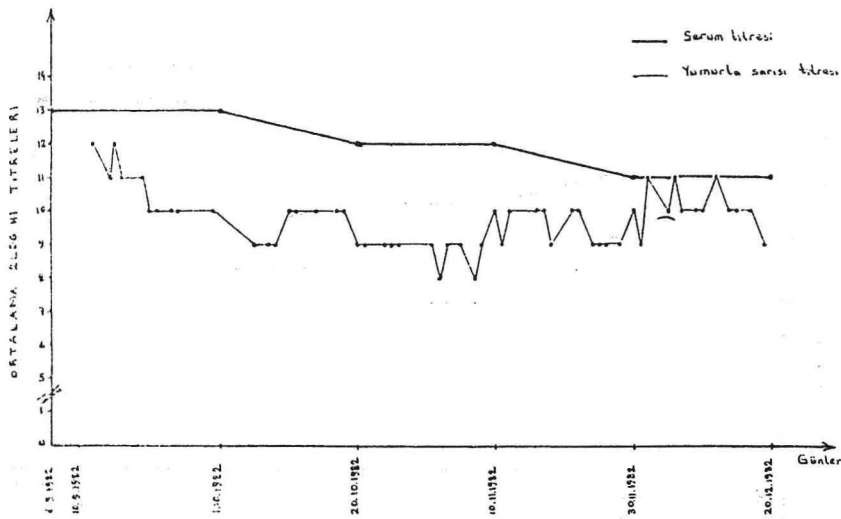


KIRMIZI TAVUK No: 11 (6.9.1982 - 20.12.1982)

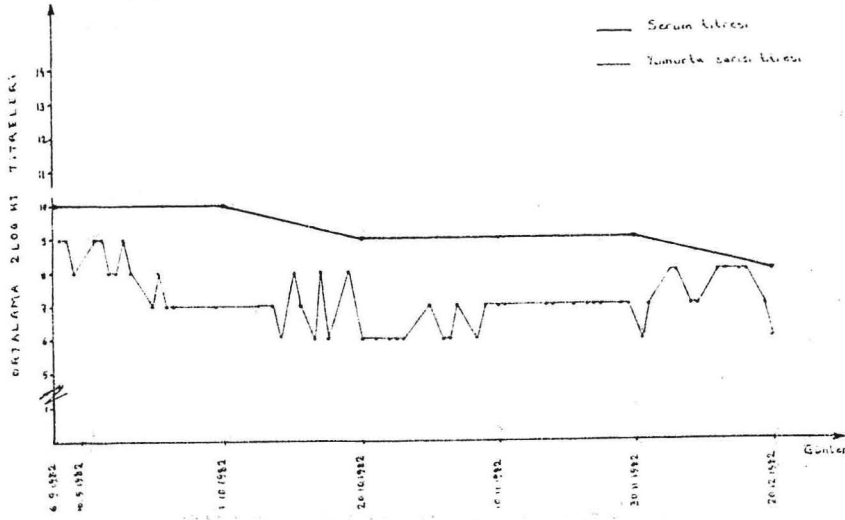
Newcastle hastalığına karşı aşıli tavuklar - Güler



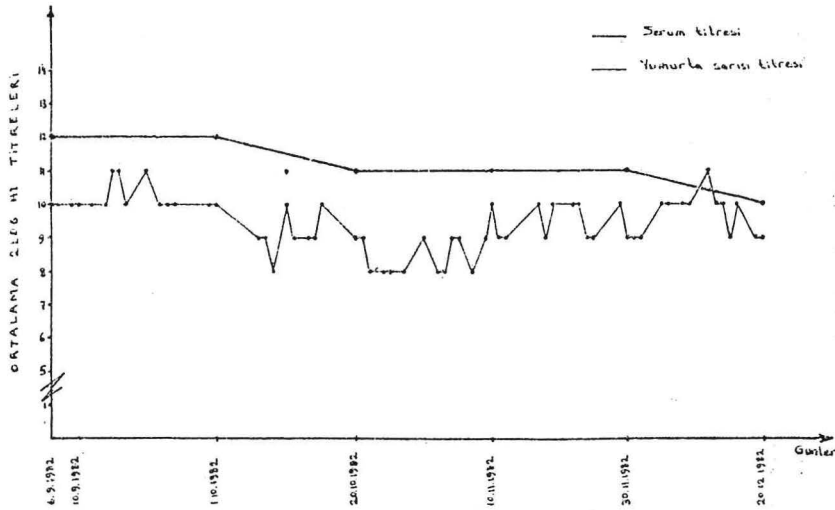
KIRMIZI TAVUK No: 12 (6.9.1982 - 20.12.1982)



KIRMIZI TAVUK No: 13 (6.9.1982 - 20.12.1982)

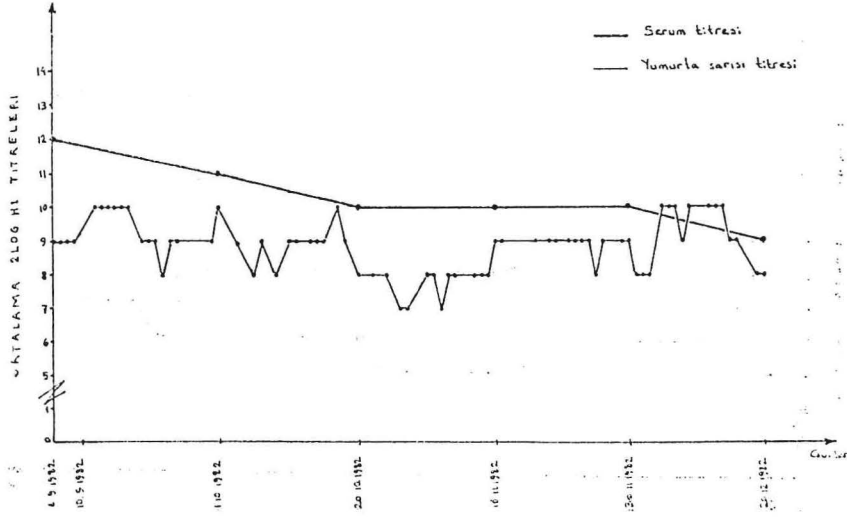


KIRMIZI TAVUK No: 14 (6.9.1982 - 20.12.1982)

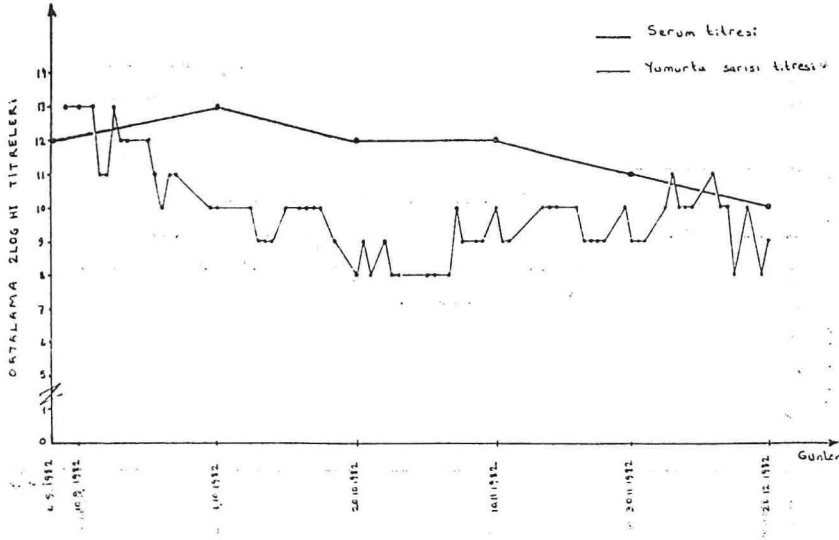


KIRMIZI TAVUK No: 15 (6.9.1982 - 20.12.1982)

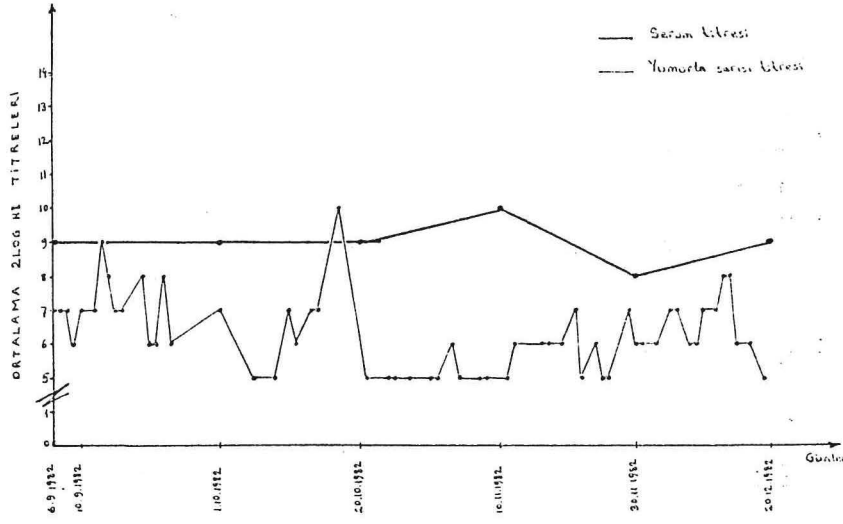
Newcastle hastalığına karşı aşılı tavuklar - Güler



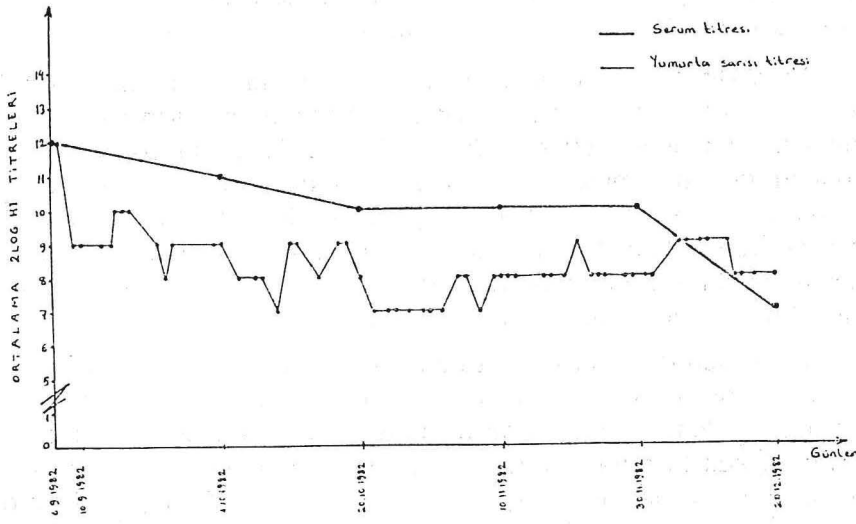
KIRMIZI TAVUK No: 16 (6.9.1982 - 20.12.1982)



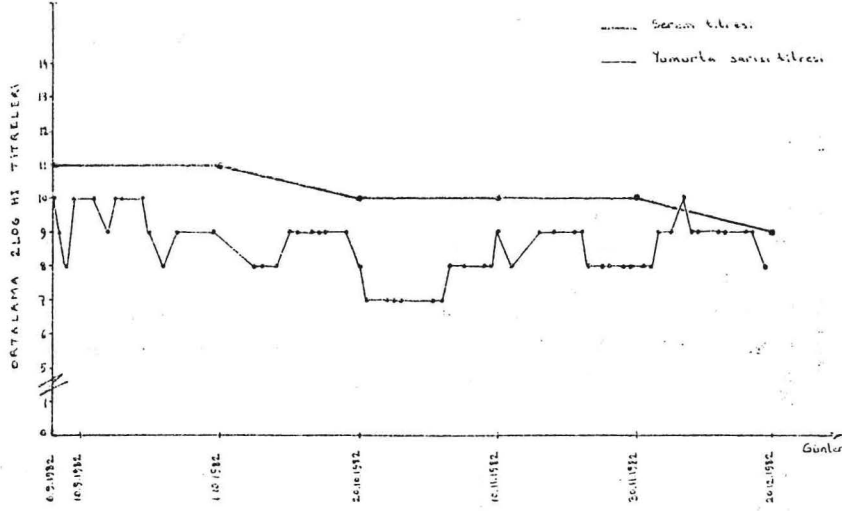
KIRMIZI TAVUK No: 17 (6.9.1982 - 20.12.1982)



KIRMIZI TAVUK No: 18 (6.9.1982 - 20.12.1982)



KIRMIZI TAVUK No: 19 (6.9.1982 - 20.12.1982)



KIRMIZI TAVUK No: 20 (6.9.1982 - 20.12.1982)

TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu araştırmada tek tek tavukların kan serumları ile yumurta sarıları HI titreleri karşılaştırılmış ve yumurta sarısının kan serumu yerine kullanılabilme durumu incelenmiştir.

Yumurta sarısının hemaglutinasyona mani olan antikorları HI testi ile saptamak için yapılan ilk çalışmalarda, yumurta sarısı testte kullanmadan önce Ethylene dichloride ve Ether ile yağ ekstraksiyonuna tabi tutulmuştur. Yumurta sarısı titresinin pek az hallerde serum titresine oranla düşük olduğu, genellikle her ikisi arasında bir korrelasyon olduğu tespit edilmiştir (24). Bu çalışmada yumurta sarısı titresinin serum titresinden daha düşük bulunuşu bu araştırmacıların bulgularıyla uyum göstermemiştir.

Daha sonra yumurta sarısında yağ çözücü olarak chloroform ve carbontetrachloride denenmiş, sıvı fraksiyonun emulsiyondan ayrılması başırlanamamıştır. Yumurta sarısı titresi kan serumuna oranla daha yüksek titre vermiş ve bu yüksek titrenin yumurta sarısının albuminle karışmasından oluştuğu bildirilmiştir (7). Son yıllarda araştırmacıların yaptıkları çalışmalarda olduğu gibi bu çalışmada da yumurta sarısındaki yağın solventlerle çıkarılmasına gerek kalmadan kullanılabilceğini göstermiştir (5, 10, 13, 16, 23, 26, 27).

Hemaglutinasyona mani olan antikorların saptanmasında yumurta sarısı ile kan serumunu karşılaştıran araştırmacılar bazıları yumurta sarısı titrelerinin, kan serumu ile tam bir uyum içinde olduğunu, yumurta sarısının kan serumu yerine Hİ testlerinde kullanılabileceğini saptamışlardır (5, 10, 13, 16, 19, 23, 24).

Bazı araştırmacılar, yumurtacı sürülerdeki bağışıklık derecesinin, Hİ testi ile her zaman yumurta sarısında tespit edilebileceğini, ancak tavukların Hitchner ve La Sota içme suyu ile aşılandıktan en az 18 gün sonra teste başlanabileceğini açıklamışlardır (13). Aşılamadan sonra titrenin, kan serumunda 13. günde, yumurta sarısında ise 18-28. nci günler arasında en üst düzeye çıktığını bildirmişlerdir (16, 25). Bu çalışmada, kan serumu titreleri beyaz tavuklarda 20. günde en üst düzeye çıktığı halde; kırmızı tavukların 8'inde 20inci, 1'inde 46., 1'inde 86. günde en üst düzeye ulaşmıştır. Yumurta sarısında ise titre beyaz tavuklarda 20-28. günler arasında; kırmızı tavuklarda 20-37. günler arasında en üst düzeye ulaşmıştır.

Serum ve yumurta sarısı titreleri en üst düzeye ulaştıktan sonra titrelerde düşme görülmesi ve günlere göre titrelerde düşme ve yükselmeler olması diğer araştırmacıların bulguları ile uyum göstermiştir (19, 25).

Kan serumu ve yumurta sarısında yüksek titrenin 91. güne kadar devam edebileceği saptanmıştır (16). Bu çalışmada ise, kan serumundaki yüksek titre beyaz tavukların 8'inde 46. güne, 2'inde 86. güne kadar; kırmızı tavukların 2'inde 20. güne, 7'inde 46. güne, 1'inde 86. güne kadar seviyelerini korumuştur. Yumurta sarılarında titreler düşmeye başladıktan sonra bazı tavuklarda 43. - 73. günlerde titrede ani bir yükselme olmuştur. Titredeki bu ani yükselme başka araştırmacılar tarafından denemenin 80. gününde rastlanılmıştır (25).

Albuminin yumurta sarısına etkisini inceleyen araştırmacılar, antikordan yoksun 56 yumurtadan 42 tanesinde pozitif Hİ tespit etmişlerdir (23). Bir kısım araştırmacılar ise yumurta akının Hİ titresini 2 log 8-11 arasında bulmuşlardır. Aşısız 8 tavuktan elde ettikleri 43 yumurtanın titrelerini negatif olarak saptadıktan sonra bu yumurta sarılarını, yumurta akları ile 1:2, 1:3, 1:4 oranlarında iyice karıştırarak, Hİ testi ile yumurta akının inhibisyon etkisini araştırdılar. Yumurta akı-sarı karışımında, yumurta akı miktarı azaldıkça inhibisyon etkisi azalmaktadır (24).

Bu çalışmada kontrol olarak kullanılan ve aşısız tavuklardan elde edilen 20 yumurta sarısından 13 tanesinin titresini ≤ 4 olmasına karşın 5 tanesi 2 log 5, 2 tanesi 2 log 6 titre vermiştir.

Elde edilen bu bulgulardan, Newcastle hastalığına karşı aşılanmış tavuklarda oluşan Hİ antikorları her zaman yumurta sarısında Hİ testi ile saptanabilir. Ancak, bulguların ışığı altında ve bu yöntemle, yumurta sarısı ile antikor saptayarak, bağışıklık hakkında hüküm vermek ve bir kriter oluşturmak mümkün görülememiştir.

Ö Z E T

Newcastle hastalığı geçirmiş veya aşılanmış tavuklardaki hemaglutinasyona mani olucu antikorlar Hİ testi ile saptanabilir. Genellikle bu test için tavuk kan serumu kullanılmaktadır.

Bu çalışmada Hİ antikorlarının Hİ testi ile saptanmasında yumurta sarısının, kan serumu yerine kullanılabilme durumu incelenmiştir. Denemede 5 defa aşılanmış 10 adet 5 aylık beyaz Shaver ve 4 defa aşılanmış aynı yaşta 10 adet kırmızı Welp-line tavuk kullanılmıştır.

Tavuklarda oluşan hemaglutinasyona mani olucu antikorlar, deneme süresince, devamlı alçalıp yükselme göstermiş, yumurta sarısı titresi her zaman serumdan daha düşük bulunmuştur. Tavuklardaki antikor titreleri her tavukta değişiklik göstermiştir.

Kontrol için kullanılan aşısız tavukların kan serumu ve yumurta sarılarının Hİ titreleri $\leq 7,5$ daha aşağıda bulunmuştur.

Aşılanmış veya Newcastle hastalığı geçirmiş tavuklarda oluşan hemaglutinasyona mani olucu antikorları yumurta sarısında Hİ testi ile saptamak her zaman mümkündür. Ancak bu yöntemle, yumurta sarısı ile antikor saptayarak, bağışıklık hakkında hüküm vermek ve bir kriter oluşturmak mümkün görülememiştir.

S U M M A R Y

A RESEARCH ON THE COMPARISON OF HAEMAGLUTINATION ON ANTIBODIES IN EGG YOLK AND BLOOD SERA OF VACCINATED HENS.

Haemagglutination inhibition antibodies in the vaccinated or diseased laying hens, can easily be determined by HI test.

In this experiment, the possibilities of using egg yolk HI titer instead of serum titer were studied. 10 white Shaver hens vaccinated 4 times with Newcastle disease vaccine and 10 red Welp-line hens

vaccinated 5 times with the same vaccines were selected. 20 Leghorn hens were kept as control.

Haemagglutination Inhibition antibodies in hens were determined by HI test both in egg yolk and blood sera during testing period. It was observed that HI titres of yolk fluctuated while blood sera HI titres were stable. Egg yolk HI titres were usually lower than blood sera, and HI titres were different in each hen.

Some of the HI titres of egg yolks and blood sera of non-vaccinated hens were negative, (titer ≤ 7.5).

As a result, it can be said that it is possible to determine HI antibodies in laying hens which had Newcastle disease of Newcastle vaccine by HI test using egg yolk. But the egg yolk method can't be replaced by blood sera.

L İ T E R A T Ü R

- 1 — AKAT, K. ve MAYILMAYIL, A. (1971) : Newcastle hastalığı. Bornova Vet. Araşt. Enst. Derg., 20: 217-254.
- 2 — AKAY, Ö. ve ARDA, A. (1979) : Newcastle hastalığı. Üçüncü Ulusal Tavukculuk Kongresi tebliği.
- 3 — ALLAN, W.H. and GOUGH, R.E. (1974) : Standard Haemagglutination Inhibition Test for Newcastle Disease. (1) comparison of macro and micro methods. Vet. Rec., 95: 120-123.
- 4 — ARDA, M. (1975) : Hollanda'da Newcastle hastalığı üzerinde çalışmalar ve HI testinin yeni yöntemle göre değerlendirilmesi. Vet. Hek. Dern. Derg., 1: 19-28.
- 5 — BABİLA, A. (1974) : Newcastle hastalığına karşı aşıları tavuklardaki bağışıklığın yumurta sarısındaki antikor seviyesi ile saptanması. Pendik Vet. Kont. Araşt. Enst. Derg., 2: 214-222.
- 6 — BAŞKAYA, H. ve MİMBAY, A. (1979) : Kümes hayvanları hastalıkları Ders Kitabı. A.Ü. Vet. Fak. Yayınları 354, Ders Kitabı 252, Ankara Üniversitesi Basımevi, 155-174.
- 7 — BORNSTEIN, B.S., RAVTENSTEIN-ARAZI, A. and SAMBERG, Y. (1952) : Some Aspects of Congenital Passive Immunity to Newcastle Disease in Chicks. 1. The Transfer of Haemagglutinin Inhibitors from the Maternal Yolk to the Chick. Am. J. Vet. Res., 373-378.
- 8 — BRUNER, W.D. and GILLESPIE, J.H. (1966) : Hagan's Infectious Disease of Domestic Animals. Cornell University Press, Fifth Edition, U.S.A.
- 9 — CHAIRMAN, E.A.C., BEARD, C., COOPER, HASEN, R.P. and POMEROY, B. S. (1972) : Haemagglutination and Haemagglutination-Inhibition Test's with Newcastle Disease Virus-Micro titer Technique. Reprinted from proceeding of 76 th annual Meeting U.S. Animal Health Association.
- 10 — CHU, H.P., BARHOUMA, N.M., EID, S., FULLER, M.K. (1975) : Egg yolk Haemagglutination-Inhibition Test's for Newcastle Disease and Avian Influenza.

- enza. Proceeding of the 5 th world Veterinary Poultry Association Congress. Münih, 2: 1014-1020.
- 11 — COETZEE, L. and RASMUSSEN, R.W. (1977) : Evalution of Immunity Against Newcastle Disease. Word's Poultry Sci. J., 4: 339-340.
- 12 — CUNNINGHAM, C.H. (1956) : A Laboratory Guide in Virology. Burgess Publishing Company, Minesota.
- 13 — DORN, P.H. and WESSLING, E. (1973) : Investigation on antibodies against Newcastle Disease in serum and in the yolk of Laying Hens. Berlin. Münih. Tierarztl. Wschr., 86: 349-350.
- 14 — GENTRY, R.F. and BRAUNE, M.O. (1972) : Prevention of virus inactivation during drinking water vaccination of poultry. Poultry Sci., 51: 1450.
- 15 — HANSON, P.P. and BRANDLY, C.A. (1950) : Important Properties in the Characterization of Newcastle-Disease-Virus. Poultry Sci. 29: 762.
- 16 — HELLER, E.D., NATHAN, D.B. and PEREK, M. (1977) : The Transfer of Newcastle serum antibody from the laying hen to egg and the chick. Res. Vet. Sci. 23: 376-379.
- 17 — HIRST, G.K. (1941) : The agglutination of red cells by allantoic fluid of chick embryos infected with Influenza Virus. Science, 94: 22.
- 18 — HOFSTAD, M.S., CALNEK, B.W., BELMEOLT, C.F., RIED, F.M. and VODER, R.W. (1975) : Disease of poultry. Iowa State University Press. Ames-Iowa. Sixth edition, second printed.
- 19 — KÖROĞLU, Y. (1979) : Newcastle hastalığına karşı aşıları tavukların kan serumu ve yumurta sarısındaki hemaglutinasyona mani olucu antikorların karşılaştırılması üzerinde araştırmalar. Uzmanlık Tezi.
- 20 — MINARD, E.I. and JUNGHER, E. (1944) : Neutralization-Tests with Avian Pneumoencephalitis-Virus. Am. J. Vet. Res., 15: 154.
- 21 — NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. (1971) : Methods for Examining Poultry Biologics and for Identifying and Quantifying Avian Pathogens. Subcommittee on Animal Health, Agricultural Board and National Research Council, National Academy of Sciences, Washington. D.C.
- 22 — ROEPKE, W.J. (1973) : The Control of Newcastle Disease in the Netherlands. Rapor.
- 23 — SCHMITTLE, S.C. (1950) : Studies on Newcastle Disease (5). A Comparison of Newcastle Disease Antibody titers in Blood and Egg Yolk as Measured by the Haemagglutination-Inhibition Test. Am. J. Vet. Res., 11: 226-230.
- 24 — SEIDL, H.R. (1975) : Comparative Studies on the Content of Newcastle Disease antibodies in egg yolk and serum of hens. Inaugural Dissertation. Fachbereich Tiermedizin, München.
- 25 — SUMNER, F.W., LUGINBUHL, R.E. and JUNGHER, E.L. (1957) : Studies on avian encephalomyelitis, 2-Flock survey for embryo susceptibility to the virus. Am. J. Vet. Res., 18: 720-723.
- 26 — ÜNAL, M. ve ONARAN, H. (1976) : Newcastle'a karşı aşıları tavuklarda kan serumu ve yumurta sarısında antikor arama (HI-test) ile bağışıklık seviyelerinin tayini. Etlik Vet. Kont. Araşt. Enst. Derg., 5: 123-128.
- 27 — WILLS, F.K. and LUGINBUHL, R.E. (1963) : The use of the egg yolk for passive immunization of chickens against Newcastle Disease Avian Disease., 7: 5-12.