

DEĞİŞİK ISI DERECELERİNDE FARKLI SÜRELERDE TUTULAN SIĞIR VEBASI AŞISININ VERO HÜCRELERİNDE AKTİVİTE KONTROLÜ

Nigar TATAR (*)

1. GİRİŞ

Siğir populasyonlarında yüksek oranlarda ölümlere sebep olan siğir vebası tarih boyunca Kuzey Amerika kıtası dışında hemen hemen dünyanın her yerinde görülmüştür. Günümüzde de siğir vebası, hastalığın görüldüğü ülkelerde önemini korurken, hastalığın görülmediği bölgeler için de önemli bir tehdit kaynağıdır. Tarih boyunca siğir vebası salgınlarında hasta hayvan ölümleri milyonları bulmuştur. Bu denli yüksek ölüm oranının ekonomik değerinin yanı sıra beslenmedeki önemi de tartışılmaz.

Enfeksiyonun görüldüğü veya risk altındaki bölgelerde yaygın olarak kullanılan siğir vebası aşısı suşu, Plowriht tarafından buzağı böbrek hücre kültürlerinde seri pasajlarla attenüe edilmiş Rinderpest bovine O Kabete (Kabete O = RBOK) suşudur. Attenüe RBOK suşu ile hazırlanan hücre kültürü aşısı, tavşan, keçi ve embriyolu tavuk yumurtasında seri pasajlarla attenüe edilen suşlardan elde edilen aşılardan yerini almıştır. Bunun başlıca sebepleri attenüe hücre kültürü aşısının bağışıklık süresinin uzun, bağışıklık seviyesinin yüksek, üretiminin, zararsızlık testlerinin kolay ve ucuz olması, değişik hayvan türlerinde aşısı komplikasyonlarının görülmemesidir (17,29,36,40,42,48). Primer buzağı böbrek hücrelerinde üretilen RBOK aşısı suşu, bu avantajları yanında, ısıya karşı oldukça hassastır. Bu sebeple koruma ve eradikasyon programlarının başarısı, uygun titredeki aşılardan hazırlanmasından kullanıma kadar geçen sürede uygun soğuk şartlarda muhafazası ile yakından ilgilidir (2,22,36,40,42).

Bu çalışmada Etlik Hayvan Hastalıkları Araştırma Enstitüsü'nde primer buzağı böbrek kültürlerinde, RBOK suşu ile üretimi yapılan ve değişik ısılarda muhafaza edilen liyofilize siğir vebası aşısının, African Green Monkey Kidney (VERO) hücre kültürlerinde aktivite kontrolü amaçlanmıştır.

(*) Uzman Veteriner Hekim, Etlik Hayvan Hastalıkları Araştırma Enstitüsü Doku Kültürü Laboratuvarı, Ankara/Türkiye

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hastalığın Tanımı

Sığır vebası özellikle sığır ve mandalarda yüksek ateş, sindirim sistemi mukozasında hemorajiler ve erezyonlarla karakterize, çok bulaşıcı ve mortalite oranı yüksek viral bir enfeksiyondur. Hastalık Latince'de *typhus bovum contagious* olarak isimlendirilir (5,7,11,25,26,40,42,43).

2.2. Tarihçe

Veteriner tarihçesi Smith sığır vebasının ilk defa hayvan hekimliğine ait en eski belge olan Kahun Papirüslerinde (M.Ö. 1900) tanımlandığını iddia etmiştir. Sığır vebası hakkında tam güvenilir kaynaklar 1711 yılında İtalya'da görülen salgınla ilgilidir (9).

Sığır vebası veteriner hekimlik tarihindeki çoğu ilk uygulamaların başlıca sebebidir. Avrupa'da 18. ve 19. yüzyıllarda görülen salgınlarda ilk defa karantina tedbirleri, hasta hayvanların imhası ve imha edilen hayvanlara tazminat ödenmesi uygulanmıştır. Lyon'da 1762 yılında ilk veteriner okulunun kuruluş sebebi de sığır vebası ile mücadeledir. 1863'de ilk uluslararası veteriner hekimler kongresi, salgın hayvan hastalıkları ile mücadele kurallarını tesbit amacıyla Hamburg'da yapılmıştır. Daha sonraki yıllarda kurulan Office International des Epizooties (OIE) de sığır vebası ile mücadele amacıyla kurulmuştur (7,9,28,40).

Türkiye'de sığır vebası salgınlarının tarih boyunca mevcut olduğu tahmin edilmektedir. Yapılan arşiv çalışmalarında Osmanlı İmparatorluğu'nun ilk yüzyıllarına ait sığır vebası ile ilgili herhangi bir belge bulunamamıştır. Türkiye Cumhuriyeti'nin kuruluşundan sonra yapılan mücadelelerle hastalık 1932'de eradike edilmiş (8,9), ancak 1969 (6,9) ve 1991 yıllarında sığır vebası Türkiye'de tekrar görülmüştür. 1969 yılında uygulanan sığır vebası salgını ile mücadele ve eradikasyon çalışmaları örnek olarak gösterilmiştir (44). Her iki salgında kısa sürede eradike edilmiştir.

2.3. Etiyoloji

Hastalık etkeninin Berkefeld filtrelerden geçebildiği ilk defa Adil ve Nicolle Bey tarafından bildirilmiştir. Sığır vebası virusu (*Rinderpest virus = RPV*) Paramyxoviridae familyası içinde morbilli virus gurubundadır. Bu grupta yer alan peste des petits ruminant virus (PPRV) canin distemper virus (CDV) ve measles virus (MV) ile antijenik yakınlığı vardır (7,9,28,42). Son yıllarda yapılan çalışmalarda 7MV-107 virusu, 72-P-535 virusu, Hh-1

virusunun da bu gruba dahil edilmesi düşünölmüştür (42,43). RPV antijenik olarak tek tiptir, fakat değişik virulenste suşlarda mevcuttur (7,11,28,38, 49,40,42). Virus enfeksiyöz komponentinden başka antijenik yapılarında içerir. Bunlar komplemanı fikse eden antijen, presipitinojen ve yüzü proteini olan hemaglütinin (HA) ve füzyon (F) proteinleridir (19,49). Virion pleomorfik, yuvarlak genellikle 100-150 nm çapında veya flamentöz formdadır. Tek sarmallı RNA ihtiva eder ve nükleokapsid 18 nm çapında helikal simetrik yapıya sahiptir. Virion zarı lipoprotein karakterinde olup yüzeyinde 8-10 nm aralıklarla ışınsal çıkıntılan bulundurur (19,42).

RPV çevre şartlarına karşı oldukça hassastır. Stabil olduğu pH değereri 7,2 - 8 arasındadır. Kokuşma, tabii şartlar altında kurutma, güneş ışığı ve kuvvetli alkali dezenfektanlar etkene kolaylıkla inaktive eder. Isıya karşı da duyarlı olan etken 56°C'de birkaç dakikada inaktive olur. Buna karşılık -20°C ve daha düşük ısılarda enfektivitesini yıllaca muhafaza eder (7,28,40,42).

Siğir, koyun, keçi, civciv embriyo, domuz, hamster, köpek ve insan orijinli hücre kültürlerinde RPV üretmek mümkündür (28). Ancak primer buzağı böbrek hücre kültürleri etkene en duyarlı hücrelerdir. Bütün virulent saha suşları primer buzağı böbrek hücre kültürlerinde üretilebilir. Fakat siğir suşları tavşan hücre kültürlerinde üretilemez (28,31,43). Devamlı hücre kültürlerinden en yaygın kullanılanı ise VERO hücreleridir. Madin Darby Bovin Kiney (MDBK) ve He-La hücre kültürleri de etkene duyarlı olan diğer devamlı hücre kültürleridir (28). Virulent ve avirulent suşlarla leukosit hücre kültürlerinde yapılan çalışmalarda virulent RPV'un siğir leukosit hücre kültürlerinde daha çabuk ürediği tesbit edilmiştir (38). Hücre kültürlerinde virulent virusun 20. pasajından sonra orijinal konakçıya karşı attenüasyon başlar (28,30). Hücre kültürlerinde virus çoğalmasına bağlı olarak cytopathic effect (CPE) şekillenir. En belirgin CPE hücre sınırları belirgin ve enfekte hücrelerin bir araya gelmesi ile şekillenen çok çekirdekli sinsidyalardır. Hücre çekirdeği ve sitoplamasında şekillenen inklizyon cisimcikleri (intranuclear inclusion bodies; INIC, intrasitoplasmic inclusion bodies; ISIC) ve enfekte hücrelerde görölen yuvarlaklaşma diğer CPE şekilleridir (7,28). Embriyolu tavuk yumurtasında adaptasyondan sonra yumurta sarısına ekimlerle virus üretilebilir (11). Fare, hamster ve ratlar deneme hayvanı olarak kullanılabilirse de en duyarlı deneme hayvanı danalardır. Tavşan da çok sık kullanılan bir diğer deneme hayvanıdır (11,28).

2.4. Epidemiyoloji

Tabii enfeksiyonlar sadece çift tırnaklı hayvanlarda görölür. Evcil çift tırnaklı hayvanlar özellikle siğir ve mandalar hastalığa çok duyarlıdır. Asya

ve Afrika'da geçmişte koyun ve keçi epizootileri bildirilmişse de günümüzde sadece Hindistan'da görülmektedir (5,7,11,40,41). Doğal enfeksiyonlar uzak doğu Asya domuzlarında da görülmektedir. Avrupa evcil domuzlarında etken üreyip çevreye saçılır fakat bu hayvanlar hastalığa dirençlidirler. Vahşi hayvanlardan yaban domuzu, yaban keçisi, zürafa, antilop, geyik, ceylan ve su aygırlarında tabii enfeksiyonların varlığı bilinmektedir. Develer de klinik semptom göstermeyen enfeksiyon kaynağı olarak düşünülmektedir (5, 26).

Enzootik hastalığın görülmediği bölgelerde sığır vebası her yaşta görülebilir. Buna karşılık enzootik bölgelerde spesifik bir yaş insidansından söz edilebilir. Enzootik bölgelerde risk altında olan grup, 1 yaş civarında olan hayvanlardır (20,28,40,42,43). Gerek Asya'da gerekse Afrika'da yapılan çalışmalarda insidansın mevsimlere göre değiştiğini gösteren herhangi bir bulgu tesbit edilememiştir (42).

Akut hastalık döneminde virus vücudun her yerinde, karkasda, visceral lenf yumrularında, sindirim sistemi mukozasında, dalakta ve akciğerde yaygın olarak bulunur. Ateşin görüldüğü ilk iki günde burun akıntısı en önemli saçılma yoludur. Konjunktival ve oral sekresyon virus yoğunluğu bakımından burun akıntısı kadar yüksek değildir. İdrarda virus ateşin 2-3. günlerinde tesbit edilir. Gaitada virus en erken ateşin 3. gününde bulunur. Total virus atılımı gözönüne alındığında gaita ile saçılan virus miktarı inanılmaz derecede yoğun ve önemlidir (28,43). İyileşen hayvanlarda persiste enfeksiyon söz konusu değildir (40, 42).

Hasta hayvanların doğal salgıları ile kontamine olan ahırlarda RPV 2-4 gün canlı kalır. Gaita ve toprakta bu süre 36 saattir (28). Dondurularak muhafaza edilen enfekte karkasların ve hastalığın subklinik seyrettiği hayvanların, hastalıktan arı bölgelere nakli hastalığın yayılmasında önemli rol oynar (26,28,43). Bulaşmada vektörlerin rolü çok nadirdir (42). Hastalığın yayılışı, hastalığın uzun süre görülmediği bölgelerde ani ve çok hızlıdır. Enzootik bölgelerde ise daha yavaş ve düzenlidir (42,43).

Sığır vebası virusu sindirim ve solunum yolu ile alınır. Bu ya hasta hayvanla direkt temasla ya da kontamine materyallerle indirekt olarak şekillenir. Deneysel olarak bulaşma virusun konjunktivaya damlatılması, intranasal yol, nasal sıvab, intradermal, subkutan, intramusküler, intravenöz ve diğer parenteral yollarla kolayca oluşturulabilir (28,43).

2.5. Patogenez

Hastalığın doğal bulaşmasında en önemli giriş yolu nasofaringeal mukozadır. RPV lenfoid dokulara ve sindirim sistemi mukoz membran epi-

tellerine yüksek bir affinite gösterir. Virus vücuda girdikten sonra ilk olarak platal tonsil veya faringeal ve mandibuler lenf yumrularında çoğaldıktan sonra kana geçerek kandaki mononükleer hücreleri enfekte eder. Viremi döneminden sonra virus kan yolu ile vücuda yayılır ve generalize enfeksiyon şekillenir. Daha sonraki virus çoğalması bütün lenfoid dokularda, sindirim sistemi mukozasında, solunum sisteminin mukoz membranlarında ve akciğerlerde meydana gelir. Bu dönemde vücutta virus yoğunluğu en yüksek düzeydedir. Özellikle sindirim sisteminde görülen lokal nekrotik stomatit ve enteritis virus çoğalmasının direkt bir sonucudur. Virus titresi ateşin görülmesinden 4-5 gün sonra yani kan dolaşımında ilk antikoların görüldüğü andan itibaren düşmeye başlar. Lenfoid dokularda lenfositlerin yıkımı sonucu leukopeni şekillenir (7,11,18,28,43,48).

2.6. Klinik Semptomlar

Sığır vebasının tipik klinik semptomları açık ve belirgin olarak ancak ekzotik bölgelerde görülür. Bu bölgelerde mortalite % 90-100 ulaşır, morbitite ise % 100 yakındır. Enzootik bölgelerde ise genellikle klinik semptomlar daha az şiddette ve fazla tipik değildir (5,28,42,43). Sığır vebası alınan virusun miktarı ve virulensine bağlı olarak perakut seyir şeklinden subklinik seyre kadar değişen bir klinik tablo gösterir. Klasik sığır vebası kısa süreli yüksek ateş, eroziv karakterde stomatit ve gastroenteritis, ishal, buna bağlı olarak meydana gelen dehidrasyon ve ölümle karakterizedir. Bu klinik seyri 5 dönemde incelemek mümkündür (28,42,43).

- Inkubasyon periyodu
- Prodromal ateş dönemi
- Eroziv mukozal dönem
- Diyarik dönem
- İyileşme dönemi

Inkubasyon periyodu, virusun vücuda girmesi ile ateş yükselmesi arasında geçen süreyi ihtiva eder. Inkubasyon süresi 3-9 gündür. Enzootik bölgelerde ve hastalığa karşı dirençli hayvanlarda bu süre 15 güne kadar uzayabilir. Deneysel çalışmalarda inkubasyon süresi 2-3 gün olarak tesbit edilmiştir. Bu dönemde virus, organizmaya giriş yoluna en yakın lenf yumrularında primer enfeksiyonu meydana getirir (5,7,11,26,28,40,41,42,43).

Prodromal dönem, ani 40-41,5°C'ye ulaşan yüksek ateşle başlar ve ağızda ilk lezyonların ortaya çıkmasına kadar devam eder. Virus replikasyonu bu dönemde en yüksek düzeydedir. Hasta hayvanlarda yüksek ateşle birlikte iştahsızlık, durgunluk, süt veriminde düşme, fotofobi, yüzeysel ve

sık solunum, ruminasyonun yavaşlaması veya durması ve konstipasyon görülür. Oral, nasal, vaginal, mukozalar ve konjuktiva konjesyone ve hiperemiktir. Konjuktival ve nasal sekresyon artar ve seröz karakterdedir. Ağız çevresi ve burun ucu kuru, tüyler karışıktır (5,7,28,41,42,43).

Eroziv mukozal dönem, alt dudak mukozası ve buna bitişik olan diş etlerinde mukozal lezyonların oluşması ile başlar ortalama 3-4 gün devam eder. Ateş yükselmesinden 2-5 gün sonra oral, nasal ve ürogenital mukoz membranlarda toplu iğne başı büyüklüğünde nekrozlar şekillenir ve yaygınlık gösterir. Bu küçük nekrotik odaklar başlangıçta ağıza kepek serpilmiş manzarası verir ki bu sığır vebası için önemli bir klinik tablodur. Nekrotik odaklar genişleyerek birleşirler ve şekillenen lezyonların üst yüzeyindeki epitel tabaka en ufak bir etki ile kolayca yerinden uzaklaştırılabilir. Özellikle dilin alt yüzeyinde şekillenen erozyonlar hastalığın klinik olarak şaptan ayırt edilmesinde önem arz eder. Nasal ve konjuktival akıntı mukoprolent bir hal alır, nasal akıntıda kan izlerine rastlanır. Yem yeme tamamen durur, fakat şiddetli bir susuzluk hissi vardır. Çok sık olmamakla beraber derinin kılsız bölgelerinde deri lezyonları şekillenebilir (28,42,43). Ateş henüz normal seviyesine düşmemiştir.

Diyarik dönem, ilk mukozal lezyonların görülmesinden 2-3 gün sonra diyare başlar ve ateş düşer. Mukoz membran, epitel doku ve kanlı nekrotik dokuları ihtiva eden gaita, koyu kahve renkte ve kötü kokuludur. Şiddetli diyare hızlı bir dehidrasyona sebep olur. Solunum güç ve ağırlıdır, baş aşağı düşer, sırt kamburlaşır, gözler göz çukuruna çöker, şiddetli bir zayıflık ve inkoordinasyon vardır. Kollaps ve ölüm hastalığın çıkışından 6-12 gün sonra şekillenir. Ölüm nedeni hızla şekillenen su ve elektrolit kaybıdır. Hastalığın bu klasik klinik formunda mortalite % 90 ulaşır (28,41, 42,43).

İyileşme dönemi hastalığı geçiren hayvanlarda iyileşme süresi birkaç hafta olarak bildirilmiştir. Mukozal dönemde iyileşme başlarsa bu süre daha da kısılır. Bu dönemde gebe hayvanlarda abort görülebilir fakat fötüs da herhangi bir anomaliye rastlanmaz (11,28,42,43).

Perakut olaylar da ise hastalık aniden yüksek ateşle başlar bir-iki gün içinde mukozal lezyonlar başlamadan ölüm şekillenir. Bu klinik form genç buzağılarda ve ekzotik bölgelerde görülür (43).

Subakut olaylar hastalığın enzootik seyrettiği bölgelerde görülür. Inkubasyon süresi uzun ve klinik semptomlar belirgin değildir. Mortalite oldukça düşüktür. Subakut olaylarda latent patojen etkenler özellikle protozoon enfeksiyonlar aktivasyona uğrar. Aktive enfeksiyonlar ve süper enfek-

siyonlar siğır vebasının klinik semptomlarını maskeleyerek hastalığın klinik teşhisinde önemli karışıklıklara sebep olurlar (5,26,43).

Hastalık koyun ve keçilerde akut, subakut ya da subklinik seyreder. Klinik semptomlar siğırlardakine benzemekle birlikte hastalık süresi daha kısa ve pneumonik semptomlar daha belirgindir (26,40,43).

Domuzlarda ise sadece Asya evcil domuzlarında klinik semptomlara rastlanır. Kinik semptomların şekillenmediği, yüksek ateş ve ölümlle karakterize perakut formun yanısıra, akut ve subakut seyir şekline de rastlanır (43).

2.7. Otopsi ve Histopatolojik Bulgular

Siğır vebasında otopsi bulguları tipiktir fakat patognomonik değildir. RPV özellikle lenfoid dokulara sonra da sindirim sistemi epitellerine büyük affinite gösterir. Dolayısıyla lezyonların çoğunu lenfoid ve epitel dokuda bulmak mümkündür (5,18,43).

Sindirim sistemi özellikle ağız mukozasında nekrotik eroziv ve ülseratif lezyonlar tipik olarak alt dudağın iç kısmı, buna bitişik diş etleri, yanak papillaları, dilin serbest ucunun ventral yüzeyinde bulunur. Abomasum da özellikle pilorik mukozada lezyonlar şiddetli ve daha çok yuvarlak şekildedir. Buna karşılık, fundus kısmındaki lezyonlar çizgi şeklinde olup mukoza kıvrımlarının kenarında yer alır. Mukoza boz bir renk alarak nekroze olur, daha sonra düşen bu nekroze mukozanın yerinde keskin kenarlı, düzensiz, hiperemik erozyonlar kalır. Bazı olaylarda ülserasyonlar görülebilir (18,43,48). Barsak mukozası kıvrımları üzerinde oluşan linear lezyonlar zebra çizgileri olarak tanımlanır. Sekumdan rektuma kadar gayet belirgin olan zebra çizgileri, siğır vebasının en önemli otopsi bulgusudur (5,18,28,43,48). Makroskopik olarak lenf yumruları ödematöz, hemorajik ve büyümüştür. Ölümün geç şekillendiği olaylarda ise lenf yumruları büzüşür ve kortekste düzensiz çizgiler görülür. Viseral lenf yumrularındaki lezyonlar da buna benzer. Ancak nekrotik lezyonlar ve barsak duvarında ülserasyonlar gelişir (18,48).

Siğır vebasında en önemli histopatolojik değişiklikler lenfoid dokular da ve sindirim sistemi epitel dokusunda görülür (18,28,43,48). Ağız mukozasında hastalığın başlangıcında epidermisteki bazofilik deorganizasyon odaklarında ve bazal hücrelerin hemen yakınındaki epitel hücreleri birbiri ile kaynaşarak çok çekirdekli sinsidyal dev hücreleri oluştururlar (18,48). Mikroskopik olarak barsaklarda yüzlek ve kript epitel hücrelerinde sinsidyal dev hücrelerin oluşumunu bu dokuların nekrozu takip eder. Lenfoid dokularda

ilk değişiklikler hücre çekirdeği ve sitoplazmasında inklizyon cisimciği ihtiva eden sinsidyaların şekillenmesidir. Sinsidyal dev hücrelerin oluşumundan sonra lenfositler nekroze olur. Tonsillerde görülen tonsillitis nekrotikans hastalığın histopatolojik teşhisinde önem arz eder (18,43,48). Aynı zamanda doku kesitlerinde immunperoksidase boyama (IP) tekniği kullanılarak viral antijenleri tesbit etmek mümkündür (10).

2.8. Teşhis ve Ayırıcı Teşhis

Hastalığın ortaya çıkış şartları, klinik belirtiler ve otopsi bulguları genellikle sığır vebasından şüphelenilmesi için yeterlidir. Uzun süre hastalığın görülmediği bölgelerde hastalıktan çok kısa bir zaman önce hayvan hareketini takiben hızlı bir yayılma vardır. Mortalite oldukça yüksektir. Fakat enzootik bölgelerde semptomlar daha az belirgindir. Mortalite ise risk altındaki hayvanların dirençlerine ve RPV'un virulensine bağlı olarak değişiklik gösterir.

Virus izolasyonu için en uygun materyaller özellikle prodromal dönemde yani ateşin en yüksek düzeye ulaştığı zamandaki hasta hayvanlardan alınan ve soğuk şartlarda tutulan antikoagülanlı kan örnekleridir. Ancak antikoagülanlı kan örnekleri hiçbir zaman dondurulmamalıdır. Gerek virus izolasyonları gerekse viral antijeninin tesbiti için uygun dönemdeki canlı hayvanlardan, preskapuler lenf yumrularından biopsi materyalleri, konjunktival ve nasal sıvılar, ağız lezyon kazıntıları, antikoagülanlı kan örnekleri ölen veya öldürülen hayvanlardan, özellikle mezenteriyel lenf nodülleri, tonsiller ve dalak amaca uygun diğer materyalleri teşkil eder (5, 28,40,41,42,43). İyileşen hayvanlardan gönderilecek kan serumu örnekleri antikör tesbiti amacıyla kullanılır.

Virus izolasyon ve identifikasyonu : Sığır vebasının teşhisi klinik semptomlar ve postmortem lezyonların tesbiti ile yapılabilir ve bu teşhis spesifik viral antijenlerin tesbiti ile doğrulanırsa da bazı durumlarda virus izolasyonu teşhisi garanti etmek için gereklidir. Özellikle hastalığın ilk defa görüldüğü bölgelerde ve RPV'un virulensinin düşük olduğu durumlarda virus izolasyonu büyük önem arz eder (42,43). Son yıllarda monoclonal antikorlarla (MAb) yapılan çalışmalarda değişik karakterdeki suş özelliklerinin tesbitine önem verilmiştir (23,27,39).

Şüpheli materyal ekimi yapılan hücre kültürlerinde, immunoperoksidase ve immunofloresans (IF) boyamalar kullanılarak CPE şekillenmeden önce enfekte hücrelerde virus varlığı ve identifikasyonu yapılabilir (40,42, 43).

Antijen tesbiti : Sığır vebasının teşhisinde en önemli faktör teşhisin hızlı yapılmasıdır. Bu maksatla kullanılan komplement fiksasyon (CF), elektron mikroskop (EM), IF ve IP testleri için laboratuvara ihtiyaç vardır. Fakat kouterimmunoelktroforesis (CIEF), agar jel immunodiffision (AGID) ve pasif hemaglütinasyon (PHA) testleri sahada kullanılmak üzere modifiye edilebilir (41,43).

Antikor tesbiti : RPV ile enfekte hayvanların lenfoid dokularında mevcut viral antijenlere karşı yüksek titrede spesifik antikorlar oluşur. Bu immün cevap temelde bütün hassas hayvanlarda virulent ve atenüe suşlara karşı aynıdır. Virulent suşlarla enfeksiyonda antikorlar klinik belirtilerin görülmesinden 2-5 gün sonra, attenüe aşı suşlarında ise aşılardan 6-10 gün sonra görülmeye başlar. Enfeksiyonun çok hafif seyrettiği bazı olaylarda antikorlar enfeksiyonu takiben 17. günde görülür. Antikor titresi ölüme kadar ya da enfeksiyondan 3-4 hafta sonraya kadar yükselmeye devam eder. Hastalığı geçiren hayvanlar ömür boyu bağışıklık kazanırlar. Yaygın olarak antikor tesbiti için virus nötralizasyon test (VNT) ve Enzim Linked immunosorbent Assay (ELISA) testleri kullanılmaktadır. Antikor tesbiti genellikle epidomiyolojik çalışmalar ve eradikasyon programları için uygulanır (1,41,42,43).

Ayırıcı teşhis : Sığır vebasası özellikle ağız lezyonları ve ishalin birlikte görüldüğü Bovine Virus Diarrhoea, Malignant Catarrh Fever ve koyunlarda PPR'dan ayırt edilmelidir. Bu hastalıkların yanısıra Şap ve Vesicular Stomatitis de gözönünde bulundurulmalıdır (2,42,43).

2.9. Bağışıklık

Sığır vebasında immün cevap karışık değildir. RPV'un bütün suşları immunolojik olarak homojendir ve suşlar arasında tam bir kros reaksiyon vardır. Hastalıktan iyileşen hayvanlarda oluşan bağışıklık ömür boyudur (26,28,32,41).

Aktif olarak bağışıklık kazanmış analarda antikorlar kolostrumda yoğunlaşır ve yavruya geçer. Yapılan deneysel çalışmalarda gebelik ve laktasyon dönemindeki hayvanların kan antikor düzeylerinde, düşmelerin olabileceği ve bu dönemlerin aktif bağışıklık üzerinde olumsuz etkileri olduğu tesbit edilmiştir (17). Ayrıca kolostrumdaki antikor titresinin buzağuların antikor titrelerinden yüksek buzağı kan serumundaki antikor titresinin de ananın antikor titresinden daha düşük olduğu bildirilmiştir (16). Buzağulardaki bağışıklık süresi kolostrumla alınan antikor seviyesine bağlı olarak 4-8 ay veya daha uzundur (5,16,17,20,42,43).

RPV bütün attenüe ve virulent suşları arasında homolog interferens görülür (5,15,28). Primer dana böbrek hücre kültürlerinde yapılan çalışmalarda attenüe suşun virulent suştan daha fazla interferon oluşturduğu tesbit edilmiştir (15,41). Ayrıca RPV ile Rift Valley Fever virus arasında da heterolog interferens görülür (5,28).

RPV önemli bir immunsupresiv etkidir. Immunsuprasyon T ve B lenfositlerin tahribatına bağlı olarak şekillenir ve mevcut latent enfeksiyonları aktive eder (5,28,40,41,42,43).

2.10. Mücadele ve Kontrol

Günümüzde sığır vebasının geçmişte olduğu gibi hastalıktan ari bölgelere hemen hemen her zaman hasta hayvanlar vasıtasıyla bulaştığı bilinmektedir. Bu sebeple hastalığın enzootik olduğu bölgelerle coğrafik ve ticari bağları olan ülkeler yüksek risk altındaki bölgeler olarak tanımlanır. Sığır vebası salgınlarında hastaların imhası ve karantina tedbirlerinin yanısıra aşılama uygulamaları, hastalığın kontrolü ve eradikasyonu için en önemli faktördür.

Sığır vebasında aşılama ile ilgili ilk uygulamalar hiperimmun serum ve inaktif virus ihtiva eden doku süspansiyonlarının kullanılmasıyla başlamıştır. Daha sonraki yıllarda Edwards'ın RPV'u keçilerde adaptasyonundan sonra 1932'de Stirling Hindistan'da, Pjaff ise Burma'da bu attenüe virusu aşı olarak kullanmışlardır. Ancak bu kaprinize aşının kullanımı hassas sığır ırklarında şiddetli aşı reaksiyonlarından dolayı, yüksek dirence sahip ırklarla, doğu Afrika zebusunda sınırlı kalmıştır (5,11). 1938'de Nakamura RPV'u tavşanlarda attenüe ederek enfekte tavşanların mezenterik lenf yumrularını aşı olarak kullanmıştır. Lapinize aşılarında bağışıklık süresi iki yıl olarak tespit edilmiş ve orta derecede dirençli sığır ırkları için tavsiye edilmiştir (5,7,11). Daha sonraları Jenkins ve Shope RPV'un RBOK suşunu embriyolu tavuk yumurtasında yumurta sarısına inokulasyonlarla attenüasyondan sonra aşı olarak kullanmışlardır (11). Günümüzde kullanılan sığır vebası aşılarının çoğu Plowright tarafından attenüe edilen RBOK suşundan orijin alır. Isıya karşı hassasiyet primer buzağı böbrek hücre kültürlerinde üretilen canlı attenüe liyofilize aşının tek ve önemli dezavantajını teşkil eder. Bu nedenle 1972 yılında Provest ve Borredon ısıya dayanıklı aşı üretim denemelerinde başarılı olmuşlar ve bu aşılarını bovin pleurapneumonia contagiosa aşısı ile kombine etmişlerdir (5,36). VERO hücrelerinde RBOK suşu' iye ısıya dayanıklı aşı üretim denemelerinden başarılı sonuçlar alınmıştır (24,42). Bu çalışmalara ilaveten Hindistan'da araştırmacılar kuzu böbrek hücre kültürlerine RBOK suşunu adapte ederek aşı üretiminde kuzu böbrek hücre kültürlerini kullanmışlardır. Asya'daki bazı

ülkelerde ise Nakamura III suşunun derivatları hücre kültürlerinde üretilerek aşı olarak kullanılmaktadır (42). Son yıllarda yapılan rekombinant aşı çalışmalarında Ha ve F proteinleri kullanılmıştır. Bu aşılarla tavşan, sığır ve domuzlarda yapılan bağışıklık denemelerinde yüksek düzeyde nötralizan antikorlar tesbit edilmiştir. Aynı zamanda ısıya dayanıklılık özelliği de taşıyan rekombinant sığır vebası aşısının hastalığın görüldüğü tropikal bölgelerde eradikasyonu daha da kolaylaştıracağı iddia edilmektedir (3, 4,47,49). Herhangi bir salgın tehlikesinde hastalığın çıkışını önleyebilmek için risk altındaki bölgede mevcut bütün ruminantlar ve domuzlar aşılanmalıdır. Hastalığın ilk görüldüğü ya da enzootik bölgelerdeki salgınlar karantina tedbirleri ve ring aşılama ile söndürülmeye çalışılır. Hayvanlar daha önce aşılanıp aşılanmadıkları gözönünde bulundurulmadan aşılanmalıdır (2,5,41,42). Maternal antikor taşımayan buzağılara doğumlarının birinci gününde aşı uygulanabilir. Maternal antikor taşıyan buzağılar ise 6-8. ayda aşılanmalı ve aşılamaya 7-9 ay sonra tekrarlanmalıdır (5,26,28,42,45). Aşılamadan önce maternal antikor düzeyleri düşük buzağılarda antikor düzeyi aşılama 15 gün sonra en yüksek düzeye ulaşır bu süre yetişkin hayvanlarda yaklaşık 21 gündür (45). Hindistan'da yapılan çalışmalarda ise kuzularda uygun aşılamaya zamanının 16-20. haftalar olduğu tesbit edilmiştir (21). Sığır vebası aşısının inaktif şap SAT-1 aşısı ile aynı zamanda uygulanmasının gerek sığır vebası gerekse şap hastalığına karşı oluşacak bağışıklığı etkilemediği bildirilmiştir (12). Gürtürk ve arkadaşları tarafından IBR virusuna karşı nötralizan antikor bulunduran sığırlarda sığır vebası aşısının daha yüksek titrede antikor meydana getirdiği iddia edilmiştir (13).

Eradikasyon çalışmalarından sonra hastalığın görüldüğü bölge ya da ülkenin hastalıktan ari olduğunun bildirilmesinin kriterleri OIE tarafından tesbit edilmiştir (37).

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Aşı Virusu

Çalışmada 22.3.1990 tarihinde liyofilize edilen 8/9 seri nolu sığır vebası aşısı kullanıldı. Aşı kontrol testlerinin tamamlanmasından sonra oda derecesinde 22°C, +4°C'de ve -20°C'de karanlıkta muhafaza edildi.

3.2. Hücre Kültürü

Titrasyonlarda 1982 yılında Flow Laboratuvarından Dr. Singh tarafından getirilmiş olan VERO hücre kültürleri kullanıldı.

3.3. Serum

Titrasyonlarda Sigma firmasından temin edilen liyofilize f3tal buzağı serumu (FCS) deiyonize steril su ile orijinal hacmine tamamlandıktan sonra kullanıldı.

3.4. Vasatlar ve Kimyasal Maddeler

HANKS

NaCl	8.000
KCl	0.400
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.200
CaCl ₂	0.140
Na ₂ HPO ₄ 12H ₂ O	0.150
KH ₂ PO ₄	0.060
Dextrose	1.000
Lactalbumin hydrolysate	5.000
Phenol red	0.0125
Penicillin-G	100 IÜ/ml
Streptomycin	100 mg/ml
Deiyonize su	1000.0 ml

Kimyasal maddeler karıştırıldıktan sonra filtrasyonla sterilize edildi. Sterilite kontrolünden sonra hücrelerde test edilen vasat titrasyonlarda kullanıldı.

PBS (Phosphate bufer solution)

NaCl	8.000
KCl	0.200
Na ₂ HPO ₄ 12H ₂ O	0.370
KH ₂ PO ₄	0.200
Phenol red	0.016
Penicillin-G	100 IÜ/ml
Streptomycin	100 mg/ml

Eritilen ve filtrasyonla sterilize edilen kimyasal maddeler kullanım süresince +4°C'de saklandı.

Tripsin

Trysin* (1:250)	2.500
PBS	1000.0 ml

Karıştırıldıktan sonra filtrasyonla sterilize edildi ve -20°C'de muhafaza edildi.

EDTA (Etylen diamine tetra acatic acid)

EDTA	2.0
Distile su	100.0 ml

Eritildikten sonra 120°C 30 dakika otoklavda sterilize edildi ve +4°C'de saklandı.

Cryo propectan

Saccharose*	100.0
Lactalbumin hydrolysate*	50.0
NaHO ₃	1.6
Deiyonize su	1000.0 ml

Karıştırılan kimyasal maddeler 110°C'de 20 dakika otoklavda sterilize edildi, liyofilizasyon için koruyucu madde olarak 1/1 oranında kullanıldı.

Titrasyonun uygulanışı : Çalışmanın başladığı önemde mikro testler için gerekli malzemenin kısıtlı olması sebebiyle makro titrasyon metodu uygulandı. VERO hücreleri % 005 EDTA ihtiva eden tripsinle tripsinize edilerek 3×10^5 hücre/ml olacak şekilde % 10 FCS ihtiva eden HANKS vasatı ile hücre süspansiyonu hazırlandı. Bu hücre süspansiyonundan her hücre kültürü tüpüne 1'er ml taksim edilerek 37°C etüvde inkubasyona bırakıldı. Liyofilize aşısı 1 ml PBS ile süspansiyon edilerek 2000 devirde 10 dakika santirifüj edildikten sonra PBS ile log₁₀ tabanına göre 10^{-1} den 10^{-7} ye kadar virus dilüsyonları hazırlandı. Hücreler % 30 monalayer olduğundan her virus

* Difco Laboratories Detroit, U.S.A.

dilüsyonundan 5 adet hücre kültürü tüpüne 0.1 ml miktarında direkt olarak inokule edildi. Aynı zamanda virus ve hücre kontrolleri de bırakıldı. Sonuçlar 12. güne kadar şekillenen CPE'ye göre değerlendirildi ve virus titresi Spearman-Kärber metoduna göre hesaplandı.

Isı derecelerinin ve titrasyon sürelerinin tesbitinde bu konudaki literatür bilgileri ve ülke şartları gözönünde bulunduruldu. Bu bilgilerin doğrultusunda oda ısısında tutulan aşı her iki haftada, +4°C'de tutulan aşı her iki ayda, -20°C'de tutulan aşı her dört ayda bir titre edildi. Bu çalışmada kullanılan 8/9 seri nolu aşının titresi Doku Kültürü Infektif Doz₅₀ (DKID₅₀) 10^{-6.25}/ml olarak tesbit edildi.

4. BULGULAR

Titrasyon çalışmalarında hücre kültürleri, birinci günden başlayarak onikinci güne kadar hücre kültürü mikroskopunda muayene edildi. Kesin değerlendirme 12. günde CPE varlığına göre yapıldı. Araştırmada kullanılan 8/9 seri nolu aşının başlangıç titresi DKIK₅₀ 10^{-6.25}/ml olarak tespit edildi.

Yapılan titrasyonlarda oda ısısında karanlık ortamda tutulan aşıda, aşı yarı ömrü 13 hafta olarak tesbit edilmiştir. Bu 13 hafta boyunca +4°C ve -20°C'de muhafaza edilen aşılarda ise herhangi bir titre kaybı görülmemiştir.

+4°C'de tutulan aşıda, aşı yarı ömrü 16 ay olarak tesbit edilmiştir. 16 ayın sonunda -20°C'de muhafaza edilen aşıda önemli bir titre kaybı görülmemiştir.

24 ay boyunca -20°C'de muhafaza edilen aşılarda tekrarlanan titrasyonlar sonucunda literatür bilgilere göre önemli sayılabilecek herhangi bir titre kaybı görülmedi.

Bu sonuçlar Tablo 1'de özetlenmiştir.

Tablo 1 : Değişik sürelerde değişik ısılarda tutulan sığır vebası aşısında meydana gelen titre kayıpları

Isı		22°C	+4°C	-20°C
Süre	Ay			
Hafta	Ay			
2	-	5.80	-	-
4	1	5.20	-	-
6	-	4.70	-	-
8	2	4.40	6.25	-
10	-	4.10	-	-
12	3	3.60	-	-
14	-	3.00	-	-
16	4	2.90	6.00	6.25
	6	-	5.70	-
	8	-	5.35	6.20
	10	-	4.50	-
	12	-	4.20	6.00
	14	-	3.60	-
	16	-	3.00	6.10
	18	-	-	-
	20	-	-	6.00
	22	-	-	-
	24	-	-	5.90

Titre : Log₁₀ DKID₅₀/ml

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Türkiye'de 1969 salgınının eradikasyonundan sonra komşu güney ülkelerden gelebilecek salgınları önlemek amacıyla bu sınırdaki tampon bölge oluşturulmuştur. Buna rağmen bu ülkelerde görülen savaşılar nedeniyle sığır vebasının bu bölgede kontrol altına alınması güçleşmiş ve hastalık ülkemiz için önemli bir tehdit kaynağı oluşturmuştur.

Bu çalışmada gerek üretim laboratuvarı gerekse taşra teşkilatında aşının muhafaza edildiği ısı dereceleri ile oda derecesinde tutulan liyofilize sığır vebası aşısının titresinde meydana gelen değişiklikler tesbit edilmiştir. Titrede meydana gelen değişikliklerin tesbitinde aşının değişik ısı derecelerindeki yarı ömrü dikkate alınarak oda ısısında tutulan aşılarda 16 hafta, +4°C'deki aşılarda 16 ay, -20°C'de tutulan aşılarda ise 24 ay müddetince titre edildi.

Yapılan deneysel çalışmalarda oda derecesinde tutulan liyofilize aşılarda yarı ömrünün 13-15 hafta olduğu bildirilmiştir (30,36). Diğer bir çalışmada ise oda ısısında 8 hafta tutulan aşılarda, titredeki düşüş 1.26 log. olarak tesbit edilmiştir (22). Oda ısısında karanlık ortamda tutulan aşılarda yapılan titrasyonlarda ilk haftalarda görülen yüksek orandaki titre düşüşleri 14. haftadan sonra daha düşük bulunmuştur. Bu bulgular Plowright tarafından yapılan deneysel çalışmalarla paralellik göstermiştir (30,33). Oda ısısında tutulan aşılarda yarı ömrü 13 hafta olarak tesbit edilmiştir. Başlangıç titresi $DKID_{50} 10^{-6.25}/ml$ aşılarda 13. hafta sonunda titre $DKID_{50} 10^{-3}/ml$ olarak tesbit edilmiştir. ancak soğuk zincirin sağlanamadığı saha şartlarında yarı ömründe önemli oranlardaki bu düşüşler her zaman gözönünde bulundurulmalıdır. Saha şartlarında aşının sulandırıldıktan sonra ısıya karşı hassasiyeti daha da artar. Bazı araştırmacılar sulandırılmış aşılarda yarı ömrünün sulandırma sıvısına göre farklılıklar gösterdiği, % 0.85 NaCl ile sulandırılan aşılarda ısıya karşı dayanıklılık süresinin diğer sulandırma sıvılarına göre daha fazla olduğunu bildirmişlerdir (22,34). Sahada 37 - 39.3°C'de uygulanan aşılarda ise aşılardan hayvanlarda seropozitiflik oranı ilk 60 dakikada % 83, 80. dakikaya kadar % 53, 100. dakikaya kadar % 17 ve iki saat sonunda sıfır olarak tesbit edilmiştir (35). Hussain ve arkadaşları ise eşit miktarda eşek serumu, muhafaza vasatı ve cryo propectan ile sulandırılmış aşılarda hücre kültürü RPV'un ısı (56°C) ve ultraviyole ışınları ile yaptıkları inaktivasyon çalışmalarında cryo propectan ilavesinin virus dayanıklılığını artırdığını tesbit etmişlerdir (14). Buna karşılık son yıllarda yapılan çalışmalarda Vero hücrelerinde üretilen ısıya dayanıklı liyofilize sığır vebası aşılarda yarı ömrünün saha şartlarında buzdolabına ihtiyaç duyulmaksızın 30 gün kullanılabilirliği bildirilmiştir. Aynı zamanda bu aşılarda yarı ömrü 42°C'de 19 gün, 45°C'de ise 11 gün olarak tesbit edilmiştir (24).

-20°C'de (stok aşuların muhafaza edildiği oda deep-freez) tutulan aşılardaki titre sonuçları daha önce yapılan çalışmalara paralellik göstermiş başlangıçta DKID₅₀ 10^{-6.25}/ml olan aşı titresi iki yıl sonra DKID₅₀ 10^{-5.90}/ml olarak tesbit edilmiştir. 16. ayda görülen 0.10 log titre yüksekliğinin uygulamadan kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

+4°C'de tutulan aşıda ise literatür bilgilerine göre 6 ay boyunca titre-de önemli bir düşüşün görülmediği bir yılın sonunda ise titre kaybının 0.60 log olduğu bildirilmektedir (22). +4°C'de tutulan aşılarda yapılan çalışmada, altıncı ayda 0.55 log olarak tesbit edilen titre kaybı, birinci yılın sonunda 2.05 log olarak tesbit edilmiştir. Bizim tesbit ettiğimiz titre kayıpları literatürlerde bildirilen değerlerden ilk 6 ay için 0.55 log, bir yıl sonrasında ise 1.45 log daha düşük bulunmuştur. Bu titre kaybı farklılığın sebebinin 8/9 seri nolu aşının liyofilize edildiği tarihlerde kullanılan kauçuk tıpalardan kaynaklanan vakum kaybına bağlı olabileceği düşünülmektedir. Aynı zamanda kauçuk tıpalarla birlikte kullanılan aşı şişelerinin boyun yapısının aşı muhafazasına uygun olmaması sebebiyle uzun muhafaza sürelerinde vakum kaybı şekillenmektedir. Vakum kaybı ise aşı titresinde önemli düşüslere sebep olmaktadır. Aynı vakum kaybı -20°C'de muhafaza edilen aşılarda da şekillenmesine rağmen ısının düşük olması bu olumsuz etkiyi önlemiştir.

Bu çalışmada gerek aşının taşrada muhafaza edildiği +4°C'de 4 ay müddetince gerekse laboratuvarıda stok aşuların tutulduğu -20°C'de iki yıl boyunca aşı titresinde önemli bir düşüş tesbit edilememiştir.

ÖZET

Etlik Hayvan Hastalıkları Araştırma Enstitüsü'nde primer buzağı hücre kültürlerinde üretimi yapılan ve oda ısısında (22°C), +4°C'de ve -20°C'de tutulan sığır vebası aşısının araştırma müddetince VERO hücre kültürlerinde titrasyonları yapıldı. Değerlendirme 12. gündeki CPE durumuna göre yapıldı ve titre değerleri Spearman-Kärber metoduna göre hesaplandı.

Oda ısısında tutulan aşıda aşı yarı ömrü 13. hafta olarak tesbit edildi. +4°C'de tutulan aşılarda ise ilk 6 ay sonundaki titre düşüşü 0.55 log, bir yılın sonunda ise 2.05 log olarak değerlendirildi. Aşı yarı ömrü ise 16 ay olarak tesbit edildi. -20°C'de tutulan aşılarda iki yıl boyunca tekrarlanan titrasyonlarda titre düşüşüne bağlı olarak önemli bir değişiklik tesbit edilmedi.

SUMMARY

Activity Control of Rinderpest Vaccine Kept Different Temperatures and Periods.

Rinderpest Vaccine, produced in primary calf kidney cells, at Etlik Animal Disease and Research Institute, kept at room temperature (22°C), +4°C and -20°C. This vaccine has been titrated in VERO cell line. The replication of the virus resulted in the appearance of a characteristic CPE. Final reading out was possible 12 days after inoculation and the titre calculated using Spearman-Kärber's method.

The half life of the vaccine, kept at room temperature, 13 weeks. When the vaccine kept at +4°C, the lose of the titre was 0.55 log at the end of 6 months and 2.05 log at the end of 12 months. Vaccines stored at -20°C. there were no significant decline of the titre.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesini temin eden Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Etlik Hayvan Hastalıkları Enstitüsü Müdürlüğü'ne, çalışma süresince bana her konuda destek ve yardımcı olan danışmanım Uzman Veteriner Hekim Ayhan AKÇORA'ya, Uzman Veteriner Hekim A. Demir YONGUÇ'a ve laboratuvar arkadaşlarıma, yapıcı uyarıları için değerli hocalarım Prof. Dr. İbrahmi BURGU ve Doç. Dr. Yılmaz AKÇA'ya ve yardımlarından dolayı Vet. Hek. Emine AKSOY'a, Vet. Hek. Fikriye EKMEN'e teşekkür ederim.

KAYNAKLAR

- 1- ANDERSON, J., ROWE, L.W., TAYLOR, W.P. : Use of an enzymelinked immunosorbent assay for the detection of IgG antibodies to rinderpest virus in epidemiological surveys. Res. Vet. Sci. 34, 77-81, 1983.
- 2- A Practical Guide for Rinderpest Campaign Field Personnel. FAO, Rome, 1985.
- 3- ASONNA, K., TSIKIYAMA, K., SHIBATA, S., YAMAGUCHI, K., MOMOKI, T., MARUYAMA, T., KOHARA, M., MIKI, K., SUGIMOTO, M., YOSHIKAWA, Y., NAGATA, T., YAMANOUCHI, K. : Immunological and virological characterization of improved construction of recombinant vaccinia virus expressing rinderpest virus hemagglutinin. Arch. Virol. 116, 81-90, 1991.
- 4- BELSHAM, G.J., ANDERSON, E.C., MURRAY, P.K., ANDERSON, J., BARRETT, T. : Immune response and protection of cattle and pigs generated by a vaccine virus recombinant expressing the F protein of rinderpest virus. Vet. Rec. 124, 655,658, 1989.
- 5- BLOOD, C.D., RADOSPIST, O.M. : Rinderpest. Veterinary Medicine. 7th ed. 837-841, 1989.

- 6 - BUHARALILAR, N., OKAY, G. : The control of rinderpest in Turkey, Cento Seminar on Viral Diseases, İstanbul, -12-17. June. 1972.
- 7- BUXTON, A., FRASER, G. : Rinderpest. *Animal Microbiology* 2. 539-546, 1977.
- 8- ERK, N. : Türkiye'de son sığır vebası salgını. *A.Ü. Vet. Fak. Derg. XVIII* : (3-4), 450-456, 1971.
- 9- ERK, N., AKKERMAN, N.C. : Türkiye'de Sığır Vebası Salgınları ve Eradikasyonu Tarihi. *A.Ü. Vet. Fak. Yay. No: 242*, 1969.
- 10- GATHUMBI, P., JONSSON, L., NILSSON, C., WAMWAYI, H., WAFULA, J.S. : Immunohistological localization of rinderpest virus in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues from experimentally infected cattle. *J. Med. B.* 36, 261-270, 1989.
- 11- GOLLOSPIE, J.H., TIMONEY, J.H. : Rinderpest. *Infection Diseases of Domestic Animals* 7th ed. 734-742, 1981.
- 12- GUILLEMIN, F., MOSIENYANE, M., RICHARD, T., MANNATHOKO, M. : Immune response and challenge of cattle vaccinated simultaneously against rinderpest and foot-and-mouth disease. *Rev. Elev. Med. Vet. Pays. Trop.* 40 (3), 225-229, 1987.
- 13- GÜRTÜRK, S., FINCI, E., BURGU, I. : Yurdumuz sığırlarında sığır vebası üzerinde araştırmalar. II- Yurdumuz sığır vebası aşısının uygulandığı bölgelerde meydana gelen değişik antikor titrelerinin nedenleri üzerinde araştırmalar. *F. Ü. Vet. Fak. Derg. II*, (3), 261-267, 1975.
- 14- HUSSAIN, S.F., RWEYEMAMU, M.M., KAMIJOLO, J.S., AKHTAR, A.S. MUGERA, G.M. : Studies on viral interference induced by rinderpest virus. Inactivation of tissue culture rinderpest vaccine virus by heat treatment at 56°C and by ultraviolet irradiation. *Zbl. Vet. Med. B.* 27, 233-342, 1980.
- 15- HUSSAIN, S.F., RWEYEMAMU, M.M., KAMIHJOLO, J.S., AKHTAR, A.S., MUGERA, G.M. : Studies on viral interference induced by rinderpest virus: interference and interferon induction by tissue culture vaccine (TCRV) virus invitro. *Zbl. Vet. Med. B.* 27, 181-189, 1980.
- 16- İYİĞÖREN, B., YONGUÇ, A.D., ÜNLÜ, M. : Sığır vebasına karşı buzağılarda aktif ve pasif bağışıklık üzerinde denemeler. *Etlik Vet. Bakt. Derg.* 4 (1-2), 13-36, 1972.
- 17- İYİĞÖREN, B., ÜNLÜ, M., YONGUÇ, A.D. : Sığır vebasına karşı ineklerde doğumdan önce ve doğumdan sonra laktasyon devresindeki antikor seviyeleri üzerinde araştırmalar. *Etlik Vet. Bakt. Enst. Derg.* 4 (5-10), 59-73, 1976.
- 18- JUBB, K.V.F., KENNEDY, P.J., PALMER, N. : Rinderpest. *Pathology of Domestic animals II.* 3th ed. 100-102, 1985.
- 19- KINSBURY, D.W. : Paramyxoviridae and their replication. *Virology* 2nd ed. edited by Fields, B.N. Knipe, D.M. et all. 845-956, 1990
- 20- KULKARNI, D.D., AHER, V.D., BANNALIKAR, A.S. : Rinderpest in crossbred calves weaned at birth. *Vet. Record.* 127, 479, 1990.
- 21- KUMANAN, K., JANAKIRAM, D., MASILLAMONY, P.R. : Sero conversion studies following tissue culture rinderpest vaccine by micro serum neutralization test in sheep. *Cherion.* 16 (6), 243-248, 1987.

- 22- LANGUET, B., PRECAUSTA, P., MACKOWIAK, M., DOBOURGET, P., REYNAUT, G., DURET, C. : Freeze-dried vaccine against rinderpest. Stability and activity study. *Comp. Immun. Microbiol. Infect.* 8 (3-4), 285-295, 1985.
- 23- LIBEAU, G., LEFERVE, P.C. : Comparison of rinderpest and peste des petits ruminants viruses using anti-nucleoprotein monoclonal antibodies. *Vet. Microbiol.* 25, 1-16, 1990.
- 24- MARINER, J.C., HAUSE, J.A., SOLLID, A.E., STEM, C., ENDE, M.V.E., MEBUS, C.A. : Comparison of the effect of various chemical stabilizers and lyophilization cycles on the thermostability of a Vero cell-adapted rinderpest vaccine. *Vet. Microbiol.* 21, 195-209, 1990.
- 25- MATHUR, S.C. : Overview of West Asia Rinderpest eradication campaign (WAREC). MI-NADEP 14th Exc. Board. Meeting. Türkiye (Pendik), 19-23 Şubat 1990.
- 26- MATHUR, S.C. : Epizootiology of rinderpest and epizootiological safeguards. *Operation Rinderpest.* (8-9), 1-23, 1991.
- 27- Mc CULLOUGH, K.C., SHESBERADERAN, H., NORRBY, R., OBI, T.U., CROWTHER, J.R. : Monoclonal antibodies against morbilli viruses. *Rev. Sci. Tech. off. int. Epiz.* 5 (2), 411-427, 1986.
- 28- PLOWRIGHT, W. : Rinderpest virus. Monograph in *Virology* 3. 25-110 Springer Verlag. Vi-en, New York, 1968.
- 29- PLOWRIGHT, W. : The duration of immunity in cattle following of rinderpest cell culture vaccine. *J. Hyg. Camb.* 92, 825-296, 1984.
- 30- PLOWRIGHT, W. : The production and use of rinderpest cell culture vaccine in developing countries. *World Ann. Rev.* 1, 14-18, 1972.
- 31- PLOWRIGHT, W., FERRIS, R.D. : Studies with rinderpest virus tissue culture. a technique for the detection and titration of virulent virus in cattle tissue. *Res. Vet. Sci.* 3, 94-103, 1962.
- 32- PLOWRIGHT, W., TAYLOR, W.P. : Long-term studies of the immunity in east African cattle following inoculation with rinderpest culture vaccine. *Res. Vet. Sci.* 8, 118-128, 1967.
- 33- PLOWRIGHT, W., RAMPTON, C.S. TAYLOR, W.P., HERNIMAN, K.A.J. : Studies on rinderpest culture vaccine III. Stability of the lyophilized product. *Res. Vet. Sci.* 11, 71-81, 1970.
- 34- PLOWRIGHT, W., HERNIMAN, K.A.J., RAMPTON, C.S. : Studies on rinderpest culture vaccine IV. The stability of the reconstituted product. *Res. Vet. Sci.* 12, 40-46, 1971.
- 35- RAMACHANDRAN, S., SCOT, G.R. : Potency of reconstituted rinderpest vaccine. *Indian Vet. J.* 62 (4), 335-336, 1985.
- 36- Report on the FAO consultation on rinderpest diagnosis, vaccine production and quality control. Roma, 15-19, October, 1984.
- 37- Report of the expert consultation on rinderpest surveillance systems. 1st conference of the OIE Regional commission for the Middle East. Working Dokument, 85-98, 1991.
- 38- ROSSITER, P.B., WARDLY, R.C. : The differential growth of virulent and avirulent strains of rinderpest virus in bovine lymphocytes and macrophages. *J. Gen. Virol.* 66, 969-975, 1985.

- 39- ROSSITER, P.B., TAYLOR, W.P., CROWTHER, J.R. : Antigenic variation between three strains of rinderpest virus detected by kinetic neutralization and competition ELISA using early rabbit antisera. *Vet. Microbiol.* 16. 195-200, 1988.
- 40- SCOTT, G.R. : Rinderpest and peste des petits ruminants. In *Virus Diseases of Food animals. A World Geography of Epidemiology and Control. Vol. II* edited by Gibbs, E.P.C. 401-433, 1981.
- 41- SOTT, G.R. : Rinderpest in the 1980s. *Prog. Vet. Microbiol. Immun.* 1, 145-174, 1985.
- 42- SCOTT, G.R. : Rinderpest virus. In *Virus infections of Ruminants*. Edited by Dinzer, Z., Morein, B. : 341-354, 1990.
- 43- SCOTT, G.R., TAYLOR, W.P., ROSSITER, P.B. : *Manual on the Diagnosis of Rinderpest*. FAO, animal Production and Health series, 1986.
- 44- SING, K.V. : Prompt action prevents the spread of rinderpest. The example of Turkey. *World Ann. Rev.* 21-23, 1983.
- 45- SROUR, E., EL-ZEIN, A. : Humoral immune response following rinderpest vaccination in cattle and sheep. *J. Vet. Med. B.* 33 (3), 180-187, 1986.
- 46- SUZUKI, T., TSUJOBI, T., SUGIMURA, T. : Comparison between the antigenicity of two rinderpest vaccine strains using the neutralization test. *J. Vet. Med. Sci.* 52 (2): 331-332, 1991.
- 47- TSUKIYAMA, K., YOSHIKAWA, Y., KAMATA, H., IMAOKA, K., ASONA, K., FUNAHASHI, S., MARUYAMA, T., SHIDA, H., SUGIMOTA, M., YAMANOUCHI, K. : Development of heat-stable recombinant rinderpest vaccine. *Arch. Virol.* 107, 225-235, 1989.
- 48- URMAN, HK., BUHARALILAR, N., ARDA, M., ÖZCAN, U.C., TANZER, F. : Sığır vebaşının klinik ve patolojik yönleri üzerine araştırmalar. *A.Ü. Vet. Fak. Derg.*, XX (4) 386-412, 1974.
- 49- YILMA, K., HSU, D., JONES, L., OWENS, S. GRUBMAN, M., MEBUS, C., YAMANAKA, M., DALE, B. : Protection of cattle against rinderpest with vaccinia virus recombinants expressing HA or F gene. *Science.* 242, 1058-1061, 1988.