

Canlı Newcastle Aşısına İnek Sütü, At Serumu ve Normal Amnio-Allantoidien Mayiin İlâvesiyle Bunların Nöytralizan Tesirlerinin Denenmesi

Mükerrem GÜLEY

Kemal AKAT

Ahmet SİPAHIOĞLU

1957'de *Giacinto Ciaccio* (1), poliomyélitis virusu Colombia-SK. suş'u ile farelerde enfeksiyon denemeleri yaparken, sığır serumu ve inek sütünün bu virus üzerine nöytralizan bir tesire malik olduklarını görüyor. Bu tesirin diğer viruslar üzerinde de olup olmadığını bazı müelliler araştırıyorlar. Netekim, 1959'da, aynı müellif (2), Newcastle virusunu ele alıyor. Tavşan serumu ile inek sütünün bu virus üzerine olan nöytralizan tesirini deniyor.

Gerek Newcastle virusu üzerinde yapılan mesailer ve gerekse patojen *Neisseria* ve *Hemophilus* gibi hassas mikroorganizmlerin liyofilize edilerek uzun zaman muhafazası için ilâve edilen süspansiyon maddeleri ve bu hususta yapılan mesailer nazarı itibare alınarak, Enstitümüzde Komarov suş'u ile istihsal edilen liyofilize - Newcastle aşısının dayanma müddetini uzatmak, çabuk homojenize olmasını sağlamak ve ambalajını küçültmek maksadıyla bu denemeler yapılmıştır.

METHOD ve MATERYAL

1 — Aşı virusu : Komarov'un Newcastle «Haifa» suş'udur. Suş ayrı, ayrı tarihlerde 11 günlük embryonlu yumurtalara telkih edilerek iki seri aşı materyali elde edildi. Aşının kontrolü olarak aynı seri virus kullanıldı.

2 — Patojen virus : Newcastle'den ölen bir tavuğun beyin süspansiyonu ile telkih edilmiş yumurta amnio - allantoidien mayiidir. Bu mayiin HA titri 640'tır. 21 günlük civcivlerde LD₅₀ si 10⁻⁹ olarak tesbit edildi. Epruvelerde 100 öldürücü doz kullanıldı.

3 — Virusa ilâve edilen maddeler :

a) İnek sütü : Taze süt 3500 devirde 15 dakika santrifüje edilerek yağı alındı. 110° C. da 30 dakika takim edildi.

b) At serumu : Taze serum 56°C.lık benmaride yarım saat inaktive edildi.

c) Normal amnio - allantoidien likit : 10 günlük normal embryonlu yumurtaların amnio - allantoidien mayileri toplandı. HA titrileri ve steriliteyi araştırıldı.

d) *M. Jung'un* (4), alçak derecelerde ve vakumla kurutmak suretiyle patojen bakterilerin muhafazası hususundaki mesaisinde vermiş olduğu formül nazarı itibare alınarak % 30 glikozlu soja-trypticase buyyonu şöyle hazırlandı : I litre damıtık suya 3 gr. Bacto - sığır ekstresinden ilâve edildi. 80° C.'a ısıtıldı. Buna soja - trypticase yerine (trypticase a pancreatic digest of caséine) den 20 gr. ilâve edildi. Bununun 100 ml. sine 30 gr. hesabıyla glikoz karıştırıldı. Ve 110° C. da yarım saat takim edildi. Takimden sonra yapılan pH. tayini 7,2 idi. Bundan 1 kısım alınarak yukarıda bildirilen süt veya serumdan 3 kısma karıştırıldı.

4 — Aşının hazırlanması ve tatbik edilen testler : Aşı materialine bire bir nisbetinde teste tâbi olacak maddeler ilâve edilerek iyice çalkalandıktan sonra 30 dakika lâboratuvar derecesinde bekletildi, 0,2 ml. miktarında tüplere taksim edilerek Edwards cihazında kurutuldu. Kullanılacağı zaman aşının titrine göre 1/1000 nisbetinde serum fizyolojikte sulandırıldı.

Liyofilizasyondan evvel ve sonra karışık aşuların ve saf kontrol aşısının HA titrileri tesbit edildi. Ayrıca, hazırlanan liyofilize aşular : a) + 4° C. da bekletilerek muhtelif zamanlarda HA testine; b) Bu aşularla aşılınmış 4 aylık piliçlerin kan serumları muhtelif zamanlarda kontrol piliçlerle beraber Hİ testine tâbi tutuldular ve aynı zamanda piliçler epruve edildiler.

5 — Aşılama ve epruvelerde 4 aylık Leghorn horoz piliçler kullanıldı. Tecrübelerin devamınca aşılılarla kontroller aynı besleme ve bakıma tâbi tutuldular.

MÜŞAHEDE ve SONUÇ

Yukarıda evsafı bildirilen süt, at serumu ve normal amnio - allantoidien likit ile bire bir nisbetinde sulandırılarak hazırlanan liyofilize Newcastle aşısının, kontrol aşısı muvacehesinde in vitro ve in vivo müşahede ve sonuçları cetvellerde gösterilmiştir.

Kontrol için 4 piliç alındı ve bunlardan 2 tanesi aşısı tatbik günü kesilerek kanlarındaki normal inhibe edici antikorlar tesbit edildi. Diğer ikisine de epruvelerde kullanılan patojen ND virusu verildi.

CETVEL : 1 — in vitro :

Kullanılan Aşılar	Hazırlama Tarihi	Kurutulmadan evvelki HA Titri	Kurutulduktan						
			Hemen	1 ay	3 ay	6 ay	9 ay	1 sene	
			sonraki Haemo - Agglutination titrileri						
Sütlü	Seri	1-3/2/959	1280	1280	640	320	320	320	320
	Seri	2-5/2/959	640	640	320	320	320	320	320
Serumlu	Seri	1-3/2/959	1280	1280	320	320	320	320	320
	Seri	2-5/2/959	640	320	320	160	160	320	160
Normal Allantoisli	Seri	1-3/2/959	1280	1280	640	640	320	160	160
	Seri	2-5/2/959	640	640	320	320	320	320	160
Kontrol Aşı	Seri	1-3/2/959	1280	1280	640	320	320	320	320
	Seri	2-5/2/959	640	640	320	320	320	320	160

CETVEL : 2 — In vivo :

Kullanılan Aşılar	Piliç No. su	Aşı tatbik Tarihi	HI testi Tarihi	HI titri	E p r u v e e t m e		
					Tarihi	Neticesi	
Sütlü	Seri 1 —	661 Z.	9/6/959	21/6/959	640	—	—
		663 Z.	»	»	1600	—	—
		662 Z.	»	—	—	21/6/1959	Ölmedi (21 gün)
	Seri 2 —	632 S.	»	—	—	»	»
		679 Z.	»	21/6/959	3200	—	—
		695 Z.	»	»	1600	—	—
Serumlu	Seri 1 —	682 Z.	»	»	3200	—	—
		680 Z.	»	»	1600	—	—
		681 Z.	»	»	—	21/6/1959	Ölmedi (21 gün)
	Seri 2 —	27	»	—	—	»	»
		23	»	21/6/959	640	—	—
		7	»	»	320	—	—
Normal Allant. likitli	Seri 1 —	542 C.	»	»	640	—	—
		664 Z.	»	»	1600	—	—
		629 U.	»	—	—	21/6/1959	Ölmedi (21 gün)
	Seri 2 —	11	»	—	—	»	»
		68	»	21/6/959	640	—	—
		43	»	»	640	—	—
Kontrol aşı	Seri 1 —	633 S.	»	»	640	—	—
		691 Z.	»	»	640	—	—
		692 Z.	»	—	—	21/6/1959	Ölmedi (21 gün)
	Seri 2 —	526 C.	»	—	—	»	»
		511 C.	»	21/6/959	3200	—	—
		527 C.	»	»	640	—	—
Kontrol (Aşısız)	Seri 1 —	No. suz	—	9/6/959	10	—	—
		No. suz	—	»	40	—	—
	Seri 2 —	No. suz	—	—	—	21/6/1959	25/6/1959 öldü
		No. suz	—	—	—	»	27/6/1959 .. ,

Aşı tatbik edilen piliçlerin ise, 12 nci günü birer tanesi epruve edildi, diğer 2'side kesilerek kanlarında inhibe edici antikorlar araştırıldı.

Süt, serum ve normal allantoidien likit ilâvesi suretiyle hazırlanan bu aşular, kontrol aşular ile in vitro ve in vivo mukayeseli denemelerinde aynı neticeyi vermişlerdir. Ve aşulara ilâve edilen bu maddelerin virus'un aktivitesine hiçbir tesiri olmadığı anlaşılmıştır.

MÜNKAŞA

1949 senesinde İstanbul'da toplanan beynelmil Patoloji Kompare Kongresinde, R. İ. N. Greavis (3), para - coli suş'larının ve diğer hassas bakterilerin aşağı derecelerde kurutularak muhafazası esnasında suspansiyone edildikleri vasatta glikoz ve proteinlerin bulunmasının önemini belirtmiştir.

Aynı şekilde 1958'de M. Jung'ın (4), yaptığı araştırmalarla da bu hususlar teyid edilmiştir.

Newcastle virusu üzerinde, 1956'da, Ginsberg ile Wedwood; Karzon; Ginsberg ve Pillemer; 1959'da, Giacinto Ciaccio (2), inek sütü ve tavşan serumu gibi bazı proteinli maddelerin nöytralizan bir tesirleri olup olmadıklarını araştırmışlar ve yalnız aktif serumların antiviral bir tesire malik olduklarını tesbit etmişlerdir.

1956'da, Winterfield (5), Newcastle virus'una tuzlu, demirli, sert suların ve 4, 4-9,2 arasında ph değişikliğinin zararlı tesirinin olmadığını ve hattâ kurutulmuş yağsız süt, pürüfiye jelâtin katılması ile de bu maddelerin virus'u dayanıklı bir hale getirerek, muhafazaya yaradığını bildirmiştir.

Biz de liyofilizasyondan önce Canlı Newcastle Aşısına, M. Jung'ın formülüne göre, glikoz ile birlikte otaklave edilmiş yağsız süt, inaktive edilmiş at serumu ve glikozsuz olarak normal amnio - allantoidien mayi ilâvesi ile yaptığımız denemelerden, bu maddelerin hiçbirisinin antiviral bir tesire malik olmadıklarını ve ayrıca, liyofilize edilmiş aşı ampullerde sulandırılırken sütün çok çabuk eridiği ve yapılan HA testinde diğerlerine nazaran daima daha çabuk bir reaksiyon verdiğini gördük.

Enstitümüzde hazırlanan liyofilize canlı newcastle aşısı, yapılan virus titrasyonlarında umumiyetle 1/1000 dilüsyonlarında kullanıldığından, en küçük doz ancak 250 olarak (ampullerde 0,25 cc. lik miktarlarında) kurutulabilmekte ve sulandırma esnasında albuminli kitle geç ve güç olarak eriyebilmektedir. Bu kuru aşının dayanma

müddetini uzatabilmek, ambalâjını küçültmek ve tatbikatta sulandırılma esnasında çabuk homojenize olmasını sağlayabilmek bakımından başta yağsız otoklavize olmuş süt olmak üzere, inaktiv at serumu ve normal allantois mayilerinin ilâvesinin faydeli olduğu anlaşılmaktadır.

Ö Z E T

1 — Canlı Newcastle aşısının dayanma müddetini uzatmak, ambalâjını küçültmek, çabuk homojenize olmasını sağlamak maksadıyla, otoklavize edilmiş yağsız inek sütü, inaktive at serumu ve normal amnio-allantoidien mayileri ilâve edilerek in vitro ve in vivo denemeler yapılmış, bu maddelerin hiçbirisinin antiviral tesiri olmadığı tesbit edilmiştir.

2 — Aşıya her üç madde ilâve edilebilirse de, sütün daha kolay temin edilebilmesi ve sütlü aşının dilüsyon mayiinde daha çabuk hemojenize olabilmesi bakımından süt tavsiye olunmuştur.

S U M M A R Y

1 — Some in-vivo and in-vitro experiments on the effectiveness of sterilized cow milk (without butter), inactivated horse serum and normal amnio-allantoic liquid on alive Newcastle Vaccine for the purpose of having longer time to use, smaller volume and easily homogenized suspension.

2 — It has been found that milk is more suitable material for this purpose, because it is easily obtainable and can be homogenized quickly in vaccine dilution in physiological saline.

B İ B L İ O G R A F İ

- 1 — Ciaccio, G. : Ann. Inst. Pasteur, 1957, 92, 844.
- 2 — Ciaccio, G. : Ann. Inst. Pasteur, 1959, 96, 500.
- 3 — Greavis, R. İ. N. : Vinci Enternas. Pat. Comp. Kongresi, 1949 İstanbul, S. 441.
- 4 — Jung, M. : Bull. Inst. Pasteur, 1958, 56, 701.
- 5 — Winterfield, R. et Sedale, E. H. : Amer. J. Vet. Res., 1956, T. 17, S. 5