

TÜRKİYE'DE NEWCASTLE AŞI ÜRETİMİNDE KULLANILAN DEĞİŞİK ORİJİNLİ B₁ SUŞLARININ ANTİGENİK ÖZELLİKLERİ ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR

Aysel ERGÜN

Etlik Veteriner Kontrol ve
Araştırma Enst. Lab. Şefi
ETLİK - ANKARA

Dr. Müjgan İZGÜR

Ankara Üniv. Vet. Fak.
Asistan
Vet. Fakültesi - ANKARA

G İ R İ Ş :

Newcastle suşları patojeniteleri yönünden değişik özellikler gösterirler ve buna göre de Lentogenik (zayıf patojen) suşlar (B₁, F. Lasota) Mezogenik (orta derecede patojen) suşlar (Roakin Komoraw), Velogenik (patojen) suşlar diye üç kısma ayrılırlar. Velogenik ve Mezogenik suşlar doku kültürlerinde plak formasyonları ve sitopatik etkileri yönünden lentogenik suşlara nazaran aktiviteleri daha fazladır. Ayrıca velogenik suşlar yumurta embriyolarını daha erken öldürürler. (1, 4, 6).

Suşların bu özelliklerinden yararlanılarak Newcastle hastalığına karşı aşılar hazırlanmakta ve değişik yöntemlerle (Burun veya göze damlatma, gaga batırma, içme suyu, kanat zarına batırma veya, intra-muskuler) hayvanlara verilmektedir (2, 10, 11, 13).

Ülkemizde B₁ suşundan burun - göz aşısı, içme suyu ve pulverize aşılarda üretiminde yararlanılmakta ve birden fazla müessesemizde bu aşılar üretilmektedir. Dolayısıyla de titre ve antijenik karakterleri farklı suşlar bulunmaktadır.

Bu nedenle biz araştırmamızda :

a — Değişik orijinli HB₁ suşlarının yumurta embriyosu üzerindeki ortalama ölüm zamanını saptamak,

b — Bu suşlarla yapılan aşılamalardan sonra oluşan antikorların H.I testi ile kontrolü ve bunlar arasındaki farkları belirlemek,

c — Meydana gelen bağışıklığın serolojik testlere paralel olarak epruve kontrollerini incelemek suretiyle, ülkemiz koşullarında en iyi bağışıklık verecek HB₁ suşunu bulmayı amaç edindik.

Araştırmada aşılardan titre ve dozları, Newcastle Burun - Göz Aşısı Hazırlama Protokolü, aşılama gün ve yöntemleri ise «Newcastle Hastalığına Karşı Koruma» yönetmeliği esasları dahilinde yapıldı (14).

Benzeri araştırmalar Hollanda'da (1970) te ve 1977 yılında ise İran'da yapılmıştır. İran'da Chazarians ve arkadaşları Amerika, Almanya ve İngiltere orijinli B₁ ve Lasota suşları ile yaptıkları mukayeseli aşılama denemelerinde İngiltere (Weybridge) orijinli suşların meydana getirdiği antikor seviyelerinin diğerlerinden daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

MATERYAL ve METOD

Civcivler : Ankara Tavukçuluk ve Araştırma Enstitüsünden 200 adet günlük beyaz Leghorn civcivleri temin edildi ve Etilik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsünde ana makinelerinde tutulup Ankara Yem Sanayii yemi ile beslendi.

Embriyolu Yumurta : Etilik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsünde Newcastle karşı aşısız kümeden alınan beyaz Leghorn yumurtaları, suşları üretmek, EID₅₀ ve ELD₅₀ tayin etmek amacıyla kullanıldı. Bunun için 9 günlük embriyolu yumurtalardan yararlanıldı.

Aşı Suşları : Denemede, Almanya, Hollanda, İngiltere (Weybridge) orijinli suşlarından yararlanıldı. Suşlar küçük şişelerde, liyofilize ve üzerlerinde original etiketlerini taşıyordu.

Serolojik Testler : HI test için, Hollanda yönteminden (2) yararlanıldı ve testlerde sulandırma sıvısı olarak fosfat buffer solusyonu kullanıldı.

Maternal Antikor Saptanması : Civcivlerden birinci ve dokuzuncu günlerde 10'ar adet kesilip kanları alınmak suretiyle aşılama öncesi maternal antikor seviyeleri tesbit edildi.

Patoganik Suş : Etilik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Tavuk Hastalıkları Teşhis Laboratuvarından alınan bir

adet patojenik Newcastle suşu embriyolu yumurtada üretildi ve 10^9 ELD₅₀/0,1 ml. olarak bulundu.

Epruvasyon : Birinci ve ikinci burun-göz aşılımlarında 15 gün sonra her suş için ayrı olmak üzere aşıllılardan 15 şer adet aşısız 4 er adet kontrol civciv üzerinde gerçekleştirildi.

Aşı Suşlarının Hazırlanması : Kurutulmuş aşı suşlarının aktivasyonu için iki defa embriyolu yumurtadan geçirildikten ve sterilite kontrolü yapıldıktan sonra alınan allantoik-amnion sıvısı içinde 200 Unit/penc. ve 200 mgr./ml. strep bulunan PBS içinde 10^{-5} sulandırılarak bu dilisyonun 9-10 günlük embriyolu yumurtaların korio allantoik boşluğuna 0,1 ml. verildi. Her suş için 10 ar adet yumurta kullanıldı. Embriyoların ortalama ölüm zamanı (MDT) her üç suştada 72-96 saatler arasında idi (3) ve suşların E.I.D.₅₀ Dozları:

Almanya : 12.3 E.I.D₅₀/0,1 ml.

Hollanda : 13 » »

İngiltere : 13 E.I.D₅₀/0,1 ml. bulundu.

Aşılımlar : Tavukçuluk ve Araştırma Enstitüsünden alınan civcivlere maternal antikor tesbitinden sonra kanat numarası takılarak 40 ar adetlik üç gruba ayrıldı. Her gruba kendi suşuyla hazırlanan aşı ile 10^7 EID₅₀/0,1 ml alacak göz yoluyla 9. günde birinci, 24-28 günlerde ikinci aşı uygulaması yapıldı. Her iki aşılamadan 14-15 gün sonra ve her gruptan 15 er adet civciv 5000 ELD₅₀/0,1 ml. ile epruve edildi. Epruvasyondan önce, aşılamalardan sonraki antikor seviyeleri H.I testler ile kontrol edildi.

B U L G U L A R

1 — Suşlar arasındaki Ortalama Ölüm Zamanı (MDT) 10^{-5} dilisyonun 9-10 günlük embriyoların korio-allantoik boşluğuna 0,1 ml. verildiğinde 48 saatte ölüm olmadı. Bu dilisyonun B, suşunun özelliğini gösterdiği, embriyonun yaşama süresinin uza-

dığı, canlı embiryo yüzdesinin arttığı, HA titrelerinin yükseldiği ve enfekte sıvıların miktarının arttığı gözlemlendi. (Tablo 1)

B₁ suşunun 10⁻⁵ dilisyonunda embiryo üzerine etkisi

Tablo 1

Suş Originleri	1. gün		2. gün		3. gün		4. gün	
	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı
Almanya	—	10	—	10	2	8	2	6
İngiltere	—	10	—	10	3	7	3	4
Hollanda	—	10	—	10	—	10	4	6

Bu dilisyonunda 4. günde ölenlerle canlı kalanlar arasında 1 log. bazende 2 log. H.A titre farkı yalnız Hollanda originli suşta bulundu. Üçüncü gün ölenlerle 4. gün ölenler arasında titre farkı bulunamadı. Fakat gerek 3. gün gerekse 4. gün ölenlerle, 4. gün canlı kalanlar arasında enfekte mayi miktarı çok farklı idi ve canlı kalanlarda bu miktar 10-12 ml. bulunduğu halde, ölenlerde 5-7 ml. idi. Bu dilisyonunda titre seviyesi ve enfekte sıvı miktarları bakımından Hollanda ve İngiltere originli suşlar arasında çok büyük farklar gözlenmedi.

2 — Cıvcivlerde Maternal Antikorun Saptanması :

Cıvcivler günlük iken 10 tanesi kesilmek suretiyle kanları alınarak maternal antikor tesbit edildi. Sonuç (Tablo 2. a) da gösterildiği gibi oldukça yüksek olup 2 log. tabanına göre 8.8 dir.

Birinci burun - göz aşısı uygulamasından hemen önce yukarıda olduğu 9 günlük iken yapılan maternal antikor yoklamasında ise sonuç 2 log. göre 2'dir. (Tablo 2 b)

Tablo 2 a

1. Gün Maternal Antikor Seviyesi

Muayene Tarihi	Serum Adedi	2 log. H.I. Titreleleri (x)										Ortalama Titre	
		<4	5	6	7	8	9	10	11	12	13		
30.5.1980	10				2	1	4	3					8.8

$$x = \frac{1}{2} n$$

Tablo 2 b

9. Günde Maternal Antikor Seviyesi

Muayene Tarihi	Adedi Serum	2 log. H.I. Titreleleri (x)										Ortalama Titre	
		<4	5	6	7	8	9	10	11	12	13		
9.6.1980	10				10								7

$$x = \frac{1}{2} n$$

9 — Aşılamalar: Cıvıcvler yönetmelik gereği 7-12 günler arasında (9 günde) maternal antikor seviyesi 7 noktasında iken göz yoluyla aşılandılar. Aşılamalarda titrelerin 10^{-7} den aşağı olmamasına ve bu titreden 0,1 ml. alacak şekilde verilmeye özen gösterildi. Birinci aşılamadan 15 gün sonra 24-28. günlerde de ikinci burun-göz aşısı uygulandı. Aşılamaları müteakip 15 gün sonra her grupta mevcut hayvanların kanları alınarak H.I testi sonuçları Tablo: 3 a, b ve c de gösterildi. Buna göre Almanya originli aşı suşu ile yapılan aşılama sonucu H.I titresi 4.8, Hollanda originli aşı suşunun 6.4, İngiltere originli suşun ise 6.1'dir.

Yine aynı şekilde ikinci burun-göz aşısından 15 gün sonra yapılan H.I testleri sonuçları da Tablo: 4 a, b ve c de gösterildi. Buradaki sonuçlarda ise, Almanya originli suş ile aşılanan cıvıcvlerin H.I titresi 6.09, Hollanda'nın 6.8, İngiltere'nin 7.2'dir.

I. Burun - Göz Aşı Uygulamasından 15 Gün Sonraki H.I. Litreleri

Muayene tarihi : 26.6.1980

Şuşun Orijini	Serum Sayısı	2 log. H.I. Titreleri (x)											Ortalama Titre
		<4	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	
Almanya	28	1	8	13	2	4							4.8
Holanda	34		1	4	15	8	6						6.4
İngiltere	34	1	1	8	9	15							6.5

$$x = \frac{1}{2} n$$

II. Burun - Göz Aşılmasından 15 Gün Sonraki H.I. Litreleri

Muayene tarihi : 12.7.1980

Şuşun Orijini	Serum Sayısı	2 log. H.I. Titreleri (x)											Ortalama Titre
		<4	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	
Almanya	22			6	10	4	2						6.09
İngiltere	25			2	7	9	3	2					6.8
Holanda	23				6	10	7	2					7.2

$$x = \frac{1}{2} n$$

4 — Epruvasyon : Birinci burun - göz aşısı uygulamasından 15 gün sonra civcivler patogenik Newcastle suşu ile 5.000 ELD₅₀/0,1 ml. ile göğüs adelesine 0,1 vermek suretiyle epruve edildiler (1-7). Epruvasyonda aşıli her gruptan 15 adet civciv, her grup için ayrılan 4 er adet kontrolle birlikte epruvasyon yapıldı ve gözlem süresince aynı bakım ve beslenme koşullarına terk edildi. Epruvasyon sonrasındaki bir ay içinde Almanya originli suş ile aşılanan gruptan 6 sı, Hollanda'dan, 4 ü, İngiltere originli suş ile aşılanan gruptan 3 ü, kontrollerin ise hepsi öldüler. Ölenlerin organlarından yumurta ekimleri ile virus izolasyonu yapıldı.

İkinci aşılama 15 gün sonra ise ikinci epruvasyon yine aynı şekilde yapıldı. Aşıli her üç-gruptan 15 şer adet civciv ile aşısız 4 er adet kontroller aynı patogenik Newcastle suşu ile epruve edildiler. Epruvasyondan sonraki bir ay içinde Almanya originli suş ile aşılanan gruptan 3 ü, Hollanda'dan 2 si, öldü. İngiltere originli olan gruptan ise hiç ölen olmadı. Kontrollerin ise hepsi öldüler.

Sonuç ve Tartışma : Virusun 10⁻⁵ sulandırılmasından sonra embiryo üzerine etkileri hemen hemen aynı oldu. Embiryonun canlı kalma saatleri, enfekte sıvıların miktarı artı ve H.A titreleri de oldukça yükseldi. Ancak 4. günde canlı kalan embiryo adedi Hollanda'da daha fazla görülmekle beraber İngiltere originli suçun H.A titresini 1 bazende 2 log. bir artış gösterdi.

Bu suşlarla uygulanan burun - göz aşılamalarından sonra yapılan H.I test kontrollerinde ise Almanya 4.8, Hollanda 6.4, İngiltere ise 6.1'dir. Burada rakamsal ifade de Hollanda önde görülmektedir. Halbuki İngiltere originli suşla aşılanan civcivler epruvasyona daha çok dayandılar. Biz bunun 7 ve 7.5 noktasına yakın olan serum sayısının İngiltere originli suşta daha fazla olmasıyla veya tam tersi H.I testlerini okuma esnasında yapılabilecek hatalara yorumluyoruz. Ancak 2. burun göz aşılamalarından sonraki H.I. test sonuçları ve birinci ihtimali destekler mahiyettedir. Tablo 4'de görüldüğü gibi ikinci aşıdan sonra en yüksek H.I titresini (7.2) İngiltere verdi. Almanya 6.09, Hollanda ise 6.8'dir. Epruvasyonda ise yine en iyi sonucu İngiltere originli suşun sonucu verdi.

İki aylık birdeneme süresinden sonra geride kalan çok az sayıdaki hayvanlarda yapılan H.I test sonuçları ise Almanya 3.6, Hollanda 4, İngiltere 3.8'dir.

Bu sonuçlar bize Almanya originli suş ile yapılan aşılamalardan sonra meydana gelen bağışıklık antikollarının düşük ve yavaş, İngiltere originli suşun bağışıklık antikollarını yüksek ve hızlı oluşturduğu, Hollanda originli suşun ise İngiltere'ye çok yakın fakat ondan biraz daha yavaş ancak daha uzun süreli bağışıklık antikolları oluşturduğu gözlemlendi (7).

Gerek şı suşlarının E.I.D₅₀ tayinlerinde egrekse patojenik suşun ELD₅₀ tayininde 10⁻³'ün üstüne çıkılamamıştır. Literatür bilgilerimiz ve müşahadelerimin ışığı altında ancak bu noktaya kadar çalışılmıştır. Aşı suşlarının bunun daha üstünde titre verebileceği düşünülebilir. Ancak burun -göz aşısı protokolünde aşı titrelerinin taban sınırlandırılmış olup 10⁻⁷'dir. Bu nedenle hayvanın en az 10⁻⁷'den 0,1 ml. olması gerekirken biz bunu denemelerimizde sağlamış bulunuyoruz.

Epruvasyonda kullanılacak patojenik suşun ise deneme hayvanlarındaki titreleri esas alınmıştır.

Sonuç olarak; aşı suşlarının 10⁻⁵ titrede sulandırılmasını ve suş olarak İngiltere Weybridge suşunun seçilmesini öneririz. Patojen suşa gelince; Embiryo üzerindeki etkilerinin, deneme hayvanları ile paralel gitmediği aşıkârdır. Bundan önceki çalışmalarımızda da aynı sonuç alınmıştır. Bu nedenle epruve suşlarının standart patojenleri suş olmasında aşılamanın kontrolleri bakımından büyük yararı olacağına inanıyoruz (8, 11, 12).

ÖZET :

Newcastle aşı üretiminde kullanılan değişik orginli B, suşlarının antigenik özellikleri üzerinde yapılan deneysel araştırma; Almanya, Hollanda ve İngiltere (Weybridge) orginli B, suşu ile yapılan burun-göz aşılamlarından sonra antikolların H.I test kontrolleri ve buna paralel olarak epruvasyon denemeleri yapıldı. Sonuç olarak, Almanya orginli suş ile yapılan aşılamalardan sonra meydana gelen bağışıklık antikolları düşük ve yavaş Hollanda originli suşun ise İngiltere'ye çok yakın fakat ondan biraz daha uzun süreli bağışıklık antikolları oluşturduğu gözlemlendi.

R É S U M É

Recherches sur les propriétés antigéniques des souches B₁ d'origine différente utilisées à la production du vaccin Newcastle, en Turquie

Dans cette recherche, on a utilisé les souches B₁ d'origine différente obtenues en Allemagne, aux Pays-Bas et en Angleterre. Dans les contrôles effectués à la suite de la I ère vaccination par instillation oculaire ou nasale par lesdites souches aux poussins de gours, les titres ont été évalués pour Allemagne 4.8, pour Pays-Bas 6.4 et pour Angleterre 6.2. A l'épreuve effectuée 15 jours après la vaccination, les meilleurs resultats ont été obtenus à partir des groupes vaccinés avec la souche B₁ d'origine Angleterre. Au 24 ième jour, à la II ième vaccination par instillation oculaire ou nasale appliquée aux poussins, les titres été évalués comme suit: Angleterre (2.7), Allemagne (6.09) et Pays-Bas (6.8). A la II ième épreuve, le meilleur resultat a été encore observé dans le groupe vacciné avec les souches d'origine Angleterre.

L I T E R A T Ü R

- 1 — Akat, K., Sipahioğlu, A., Berber, R., 1963. B₁, F, Lasota ve Hafnia Newcastle aş suşları ile içme sularına katılmak suretiyle, immuno-gen, antijenik ve patojenik tesirlerin mukayesesi. Etlik Vet. Fak. Enst. Derg. 2, 76-78
- 2 — Almasay, K., Barhovma, N., Elsabbagh, A., İbrahim, S.N., Bantor, N., Khashaba, N., Gawad, S.A, 1979. Comparative immunization experiments with lentogenic Newcastle Disease vaccine strains, journal of the Egyptian Veterinary Medical Association 25 4 95-104 (En, 11 ref) Serum and Vaccin. İnst., Abascia Cairo Egypt.
- 3 — Arda, Mustafa, 1976. Hollanda'da Newcastle hastalığı üzerinde çalışmalar ve H.I testinin yeni yönteme göre değerlendirilmesi. Vet. Hek. Dern. Derg. 46 (1,2,3) : 19-28.
- 4 — Arda, Mustafa, 1976. 1977 yılında Newcastle üzerinde çözüm bekleyen bazı serumlar. J. Fak. Vet. Müd. Univ. İstanbul 2 (2) 47-56.
- 5 — Başkaya, H. ve Arda., M. 1970. Patogen İsrail Newcastle suşu üzerinde immunolojik ve serolojik Araştırmalar., Vek. Fak. Derg. 17 (1) : 35-46
- 6 — Food and Agriculture Organization of the Ünited Nations., 1978 Newcastle Disease Vaccines Their production and use.

- 7 — **Gharozions, A., Aflatouni, F., Derakhchani, H.** 1977. Evaluation of the antigenicity of vaccine strains of Newcastle disease virus given by the conjunctival route to chickens. Bulletin de l'office international des Epizooties. 87 (9-10) 785-789 (Fr.) Razi. Nat. Serum and Vaccine. Jist. Teheran. Iran.
- 8 — **Gomez, M., Ramos, N., Bergawist, E.** 1978. İmmuna responsa in chickens vaccinated with Newcastle disease virus, Respuesta inmunologica en pollos vacunados con virus de la enfermedad da Newcastle. Archives de Medicina Veterinaria. hile 10 (1) 48-55 (Es, en 30 ref) Fac. Med. Vet. Univ., Correa 3, casilla 15 Granja Santiago Chile.
- 9 — Kanatlıların Yalancı Tavuk Vebası-Newcastle-Hastalığına karşı korunma ve Savaş Yönetmeliği. Tarım Bakanlığı Vet. İş. Gn. Md.
- 10 — **Kelly, A.** Newcastle disease in Great Britain, 1973. The 1970-1971 epidemic and the current disease situation. Bulletin de l'office International des Epizooties 79 No. 1/2, 127-136 (En) animal Health Div., Maff. Tolworth, Surbiton, Surrey KT 6 7 NF.
- 11 — **Kim, S.J., Spradbrow, F.B.** 1978. Some Properties of Lentogenic Australian Newcastle Disease Virus. Veterinary Microbiology 3 (2) 129-141 (En, 27 ref) Dev. Vet. Path., Univ., Brisbane, Queensland Australia.
- 12 — **Nemarmik, D.**, 1977. influence of the route of vaccination on the immunogenicity of Lasota Newcastle Disease vaccine. Praxis veterinaria 25 (2) 113-115 (Sh. en. ru 10 ref) Pliva, Zagreb, Yugoslavia.
- 13 — **Ficault, f., Bennejan, G., Guittes, Michele.**, 1975. Prevention de la Maladie de Newcastles Utilisation de vaccina a virus vivant et inactive chez le poussin d'un jour porteur d'anticorps maternels.
- 14 — **Satyanarayana, A., Reddy, A.M.K. Swamy, D.M., Akbar, B.A.** 1977. Pattern of development and duration of immunity in chicks protected with Extrains Ranikhot disease vacias. indian Veterinary journal 54 (7) 509-916 (En, 17 ref Vet. Biol. Rs. İnst., Hydrabad. Andhra Pradesh. India.
- 15 — **Seimemis, A., Menasse, Log Viemos, G., Papanicolau, I.**, 1976. Studies on vaccination against Newcastle disease with the Komorow strain a of virus by. The drinking water 33, 286-283 (En. o, ref. discusion 289) state Vet. Microbiol. Inst. Ieraodos 75, Athems Greece.