

# KOMBİNE HAZIRLANAN KOYUN ÇİÇEK VE KOYUN-KEÇİ VEBASİ AŞISININ BAĞIŞIKLIK VE ZARARSIZLIĞININ SAPTANMASI

Veli GÜLYAZ , Selma ÖZDEMİR

Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma. Enstitüsü, 34890 Pendik, İstanbul

Geliş Tarihi: 25.01.2008

**Özet:** Bu çalışmada bivalent olarak hazırlanan koyun çiçek (SP) ve peste des petits ruminants (PPR) aşısının koyunlarda bağışıklık ve zararsızlık çalışmalarının yapılması amaçlandı. Karma aşının bağışıklık gücünün saptanması için koyunlar 4 gruba ayrıldı. İki ml liyofilize edilen karma aşı 100 ml sulandırma sıvısı ile sulandırıldı ve 1. grupta yer alan 8 adet koyun 1 ml deri altı yolla aşılandı. İkinci grupta yer alan 4 koyun SP aşısı ile ve 3. grupta yer alan 4 koyun PPR aşısı ile ayrı ayrı aşılandı. Aşılamadan 21 gün sonra aşılanan hayvanların kanları alındı ve kan serumlarında PPR ve çiçek yönünden anti-kor titreleri saptandı. Karma aşı ile aşılanan koyunlarda SP virüsüne karşı ortalama antikör titreleri log<sub>10</sub><sup>1.46</sup> bulunurken, PPR virüsüne karşı antikör titreleri ise ortalama 1/880 olarak saptandı. Sadece SP aşısı ile aşılanan koyunlarda SP virüsüne karşı antikör titresi ortalama log<sub>10</sub><sup>1.68</sup> iken yalnız PPR aşısı ile aşılanan koyunlarda ortalama log<sub>2</sub> 1/800 olarak saptandı. Aşılı hayvanlarda yapılan epruvasyon çalışmaları sonucu, karma aşı ile aşılanan koyunlarda gerek PPR hastalığına ait gerekse SP hastalığına ait hastalık belirtilerinin ortaya çıkmadığı görüldü. Sonuç olarak kombine PPR ve SP aşısı yapılan koyunlarda her iki hastalığa karşı yeterli düzeyde bağışıklık oluştuğu belirlendi.

**Anahtar sözcükler:** Koyun, keçi çiçek, PPR, kombine aşı, bağışıklık, zararsızlık

## **The determination of immunity and safety of a combined Sheep Pox and peste des petits ruminants vaccine.**

**Summary :** In this study, it was aimed to determine the immunity and safety properties of a bivalent vaccine prepared with Sheep Pox (SP) and peste des petits ruminants (PPR). All sheep were divided into 4 groups. Freeze-dried bivalent vaccine was diluted in 100 ml PBS and 8 sheep in the first group were vaccinated with 1 ml of the bivalent vaccine. In the second group 4 sheep were vaccinated with SP vaccine, in the third group, 4 sheep were vaccinated with PPR vaccine. After 21 days, serum samples were taken from all the vaccinated and control sheep. While antibody titer against SP was obtained as mean log<sub>10</sub> 10<sup>1.46</sup>, PPR antibody titer was log<sub>2</sub> 1/880. The sheep that were vaccinated with SP vaccine had antibody titer log<sub>10</sub> 10<sup>1.68</sup>. In the other group that the sheep were vaccinated PPR vaccine, mean antibody titer was log<sub>2</sub> 1/800. In the challenge of animals, all animals that had been vaccinated with bivalent vaccine, SP vaccine only and PPR vaccine only were found to be immunized against SP and PPR virulent viruses. Consequently, sheep that were vaccinated with combined SP and PPR vaccines were found to have adequate antibody titers against sheeppox and PPR diseases.

**Key words:** Sheep and goat pox, PPR, bivalent vaccine, immunity, safety

## **GİRİŞ**

Koyun-keçi çiçeği (SGP) hastalığı koyun, keçi, kuzu ve oğlaklar arasında görülen, salgın ve öldürücü generalize viral bir enfeksiyondur. Damızlık hayvanlarda deri ve iç organlarda görülen lezyonların yanında abort ve mastitise, kuzu ve oğlaklarda ise yüksek oranda ölümlere sebep olmak-

tadır (2). Koyun çiçeği virüsü (SPV) Poxviridae familyası içinde yer alıp, *Capripoxvirus ovis* olarak adlandırılır. Keçi çiçeği virüsü (GPV), ORF ve sığırların yumruğu deri hastalığı (LSD) etkenleri ile ortak antijenik yapıya sahip olup serolojik olarak birbirleri ile ortak reaksiyon verirler. LSD

virüsünün sığırlarda hastalık oluşturmakla birlikte orijinini Capripox virüslerden aldığı bildirilmiştir. Ancak gerek doğal ortamlarda ve gerekse deneysel çalışmalarda LSD virüsünün koyun ve keçilerde hastalık oluşturmadığı belirtilmiştir (2,3). Etkenin solunan hava, salya damlacıkları, çiçek döküntüleri ve süt ile saçıldığı, doğal infeksiyonun hayvandan hayvana damlacık infeksiyonu ile bulaştığı, bazı durumlarda insektlerin de bulaşmada rol alabileceği, virüsün alınmasından sonra viremi meydana geldiği ve etkenin bütün vucuda yayıldığı bildirilmiştir (6,14,16).

Koyun çiçek (SP) hastalığı görülen ülkelerde mücadele koyunların periyodik olarak aşılma- ları ile yapılmaktadır. Bu amaçla SP karşı mono- valan canlı ve inaktif aşılarından yararlanılmaktadır (25). Günümüzde kullanılan SP aşılarının teme- lini lokal suşlar oluşturmaktadır. Özellikle Bakır- köy koyun çiçek suşu, 0240 Kenya koyun-keçi çi- çek suşu, Romanya ve RM 65 koyun çiçek suşları ile Mysore ve Gorgan suşları en yaygın kullanılan suşlardır (8,9,15,17).

Yeni nesil capripox virüs aşıları geliştirme ça- lışmaları devam etmektedir. Bunlarda vektör ola- rak capripox virüs genomu kullanılarak ruminant- ların sığır vebası, koyun vebası, koyun-keçi çiçe- ği gibi patojenlerine karşı tek aşılama ile koruma sağlanabilecektir (22).

Koyun ve keçi vebası (Peste Des Pestits Ruminants=PPR) etkeni, Paramyxoviridae aile- sinde bulunan bir morbilli virüstür. Hastalık bula- şıcılığı yüksek, akut, ateşli bir enfeksiyon şeklinde kendini göstermektedir. PPR enfeksiyonunun Af- rika, Arabistan yarımadası, Orta Doğuda bilinen yaygınlığı yanında ülkemizde de son yıllarda sal- gınlar şeklinde görülmektedir (2,4,23).

Hastalığın inkübasyon periyodu 4-6 gündür. Klinik belirtiler 41 °C' ye çıkan ateş ile başlar ve ateş 3-5 gün sürer. Hayvanlarda iştahsızlık, so- lunum güçlüğü görülür. Seröz burun ve göz yaşı akıntısı oluşur. Ateş yükselmesinin başlangıcın- dan itibaren 4 gün içinde hayvanlarda ağız boşlu- ğunda damaklarda hiperemi, eroziv lezyonlar ve salya akıntısı görülür. Hastalığın ileri devrelerinde kanlı ishal ortaya çıkar, solunum güçlüğü, pneu- monia, öksürük ve abdominal solunum tipik be- lirtilerdir. Hastalığın morbiditesi %100, mortali-

tesi ise şiddetli salgınlarda %100'e kadar çıkabil- mektedir (2,7).

Hastalığın serolojik ve virolojik teşhisinde vi- rüs izolasyonu, virüs nötralizasyonu, serum nö- ralizasyon, agar jel immunodiffüzyon, ELISA ve PCR testleri kullanılmaktadır (2).

Koyun ve keçilerde PPR hastalığı ile mücade- lede hastalığın görüldüğü ilk yıllarda sığır veba- sı aşısı kullanılmış, daha sonradan PPR Nijerya 75/1 aşısı suşu gibi homolog aşılar geliştirilmiştir (2,24).

Bu çalışma ile ülkemizde küçük ruminantlarda yaygın şekilde görülen SP ve PPR hastalıkları ile mücadelede ayrı ayrı üretimleri yapılan ve mono- valan olarak kullanılan PPR ve SP aşılarının bir araya getirilmesi ile hazırlanan liyofilize kombine PPR + koyun çiçek aşısının zararsızlık ve bağışık- lığının saptanması amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve METOT

### Materyal

**Hücre kültürü, aşı virüsleri ve pozitif im- mun serumlar:** SP virüsü üretilmesi için kullanı- lan primer kuzu böbrek hücre kültürü enstitümüz laboratuvarlarında bilinen yöntemle hazırlandı. PPR virüs ise vero hücre kültüründe üretildi. Tüm hücreler %2-5 fetal dana serumu içeren Glasgow- MEM (GMEM) vasatında büyütüldü. Virüs üreti- mi öncesinde tüm hücre kültürleri ruminant pes- ti virüsleri ile kontaminasyon yönünden kontrol edildi.

SP(Bk)LK<sub>65</sub> koyun çiçek aşısı suşu Pendik Vete- riner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Viral Aşılar Üretim Laboratuvarından, PPRV Nijerya 75/1 aşısı suşu Vetal Hayvan Sağlığı A.Ş. firmasından te- min edildi. Kombine PPR-SP aşısı ise kuzu böb- rek hücre kültüründe hazırlanan SP aşısı virüsü (DKID<sub>50</sub> 10<sup>5.2</sup>) ile vero hücre kültüründe üretilen koyun-keçi vebası aşısı virüsünün (DKID<sub>50</sub> 10<sup>5.0</sup>) eşit hacimde karıştırılması ile elde edildi. Hazırla- nan kombine 2 ml hacimde liyofilize edildi. Kom- bine aşısı kullanım öncesinde 100 ml sulandırma sıvısı ile karıştırıldıktan sonra 1 ml hacimde deri altı yolla inokule edildi.

Araştırmada kullanılan pozitif SP immun serumu Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Viral Aşılar Üretim Laboratuvarından, pozitif PPR immun serumu ise Fransa CIRAD Enstitüsünden ticari olarak temin edildi.

**Eprüvasyon virüs suşları:** Koyunların eprüvasyonunda kullanılacak patojen SP virüsü saha suşu SP(İ)LK<sub>5</sub> ile PPR virüsü saha suşu PPR(P)V<sub>7</sub> Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Viral Aşılar Üretim laboratuvarından temin edildi.

**Araştırmada kullanılan hayvanlar:** PPR ve SP yönünden seronegatif 6-12 aylık 30 kuzu kullanıldı.

### Metot

**Aşılama protokolü:** Çalışma dört grup hayvanda gerçekleştirildi. Birinci grupta (G-1) yer alan 8 hayvan 1 ml liyofilize kombine aşı ile deri altı yolla inokule edilirken, 4 adet hayvan aşı uygulanmaksızın kontrol grubu olarak tutuldu. İkinci grupta (G-2) yer alan hayvanlardan 4 adedine 10<sup>3.2</sup> /ml/doz titrede SP aşısından 1'er ml deri altı yolla verilirken, 2 koyun aşılanmamış kontrol olarak gruba katıldı (1). Grup 3'te (G-3) yer alan 4 adet koyuna 10<sup>3</sup> /ml/doz titrede PPR aşısı 1'er ml deri altı verildi. Bu grupta yine 2 adet hayvan aşılanmamış kontrol grubu olarak çalışmaya katıldı (2). Ayrıca 4. Grupta (G-4) yer alan 6 adet hayvan ise her grup için 2 koyun olacak şekilde eprüve edilen hayvanlar ile kontakt temasta bulundurulmak üzere ayrıldı.

G-1'de yer alan ve karma PPR ve SP aşısı yapılan 8 adet koyunun aşılama 21 gün sonra PPR ve SP aşı virüslerine karşı oluşan antikor titrelerinin saptanması amacıyla kanları alındı ve koyunların 4 adeti 2 adet kontrol ile birlikte SP(İ) LK<sub>5</sub> patojen SP suşu ile eprüve edildi. Kalan 4 adet koyun ise 2 adet kontrol koyunla birlikte PPR(P)V<sub>7</sub> koyun vebası suşu ile eprüve edildi. Ayrıca 2 kontrol koyun ise PPR ile eprüve edilen hayvanlar arasına konarak kontakt temas ile hastalığın bulaşması gözlemlendi. G-2'de yer alan ve sadece SP aşısı ile aşılanan koyunlar SP(İ) LK<sub>5</sub> patojen SP suşu ile eprüve edilirken, G-3'te PPR aşısı ile aşılanan koyunlar PPR(P)V<sub>7</sub> koyun vebası suşu ile eprüve edildi (2,19-21).

**Virüs nötralizasyon testi (VNT):** SP ve PPR virüsleri ile yapılan aşılamalardan sonra meydana gelen bağışık yanıtın karşılaştırmalı olarak değerlendirmesi amacıyla, aşılama sonrası 21. günde alınan kan serumları virüs nötralizasyon testine tabi tutuldu. Bu amaçla 100 DKID<sub>50</sub> değerinde hazırlanan virüs sulandırılmaları SP(Bk) LK<sub>64</sub> ve PPR(P)V<sub>7</sub> eşit hacimde serum sulandırmaları ile bir araya getirilerek 1 saat süreyle nötralizasyona terk edildi. Süre sonunda SP virüsü ile yapılan nötralizasyon testine primer kuzu böbrek ve PPRV için yapılan nötralizasyon testine ise vero hücresi ilave edilerek test inkubasyona kaldırıldı. VNT sonuçları testi izleyen 3-7 gün sonra mikroskopik olarak değerlendirildi (2,5,13,18).

**Eprüvasyon çalışmaları:** SP yönünden eprüvasyon testi daha önce bildirilen yöntemlere göre yapıldı (2). Koyunların sağ ve sol göğüs bölgeleri tıraş edilerek alkolle iyice silindi. SP(İ)LK<sub>5</sub> patojen saha suşunun PBS ile 10<sup>-1</sup>-10<sup>-5</sup> arası 10 katlı dilüsyonları yapılarak, her bir virüs dilüsyonu koyunların her iki göğüs bölgesine ve aralarında en az 5'er cm mesafe bırakacak şekilde dört noktaya 0.2 ml hacimde ve intradermal yolla inokule edildi. Eprüvasyondan sonra 15 gün süreyle hayvanların her gün vücut ısıları ölçülerek inokulasyon noktalarındaki değişimler izlendi. Koyun vebası (PPR) yönünden eprüvasyon testi için ise patojen koyun vebası virüsü PPR(P)V<sub>7</sub>'dan saptanan her bir hayvana DKID50 10<sup>-3</sup> ml olacak şekilde deri altı yoluyla 1 ml hacimde inokule edildi. İnokulasyonu takiben 15 gün süreyle koyunların vücut ısıları ölçüldü ve hayvanlarda gözlenen klinik bulgular kaydedildi (2,7,9).

**Karma aşının potens testi:** Bu amaçla, SP ve PPR antikorları yönünden seronegatif olan 12 adet 1 yaşlı koyun her grupta 4'er hayvan olacak şekilde 3 gruba ayrıldı. Birinci gruptaki 4 koyuna karma aşından 100 aşı dozu, ikinci gruptaki 4 koyuna 1/10 aşı dozu inokule edilirken, 3. gruptaki 4 koyun kontrol olarak ayrıldı. Tüm hayvanlar 21 gün süre ile SP ve PPR hastalıklarına özgü klinik belirtiler yönünden gözlemlendi. Süreç sonunda gruplarda yer alan hayvanlardan kan örnekleri alındı ve her grupta bulunan 2 koyun PPR virüsü ve 2 koyun da SP patojen virüsü ile eprüve edildi. Eprüvasyondan 15 gün sonra 100 katlı ve 1/10 katlı virüs oranlarında aşılanan koyunlar PPR ve SP hastalığı belirtileri yönünden izlendi (7,10-12).

**Zararsızlık testi:** Karma aşının zararsızlık testi daha önce bildirilen yöntemle yapıldı (2). Bu amaçla 6 adet kobra ve 15 adet 3 haftalık fare ile çalışıldı. PBS ile 1/10 oranında sulandırılan karma aşı ikişer adet kobaya 0.5ml hacimde intramuskuler ve 0.5 ml intraperitoneal yollarla inokule edildi. Kontrol amacıyla bırakılan 2 kobayla birlikte denemeye alınan tüm kobayların günlük klinik belirtiler ve inokulasyon bölgelerindeki değişiklikler yönünden 15 gün süreyle gözlemleri yapıldı. Fareler üzerinde yapılan çalışmalarda ise, 10 adet fareye 0.1 ml karma aşı süspansiyonu intraperitoneal yolla verildi. Kontrol amacıyla 5 fare ayrıldı. Kontrol amacıyla bırakılan 5 fareyle birlikte denemeye alınan tüm farelerin günlük klinik belirtiler ve inokulasyon bölgelerindeki değişiklikler yönünden 15 gün süreyle kontrolleri yapıldı (1,2).

## BULGULAR

### PPR ve SP antikor titreleri

**G-1'de,** liyofilize (koyun çiçek + koyun-keçi vebası) karma aşı ile aşılanan 8 adet koyunun aşılamadan 21 gün sonra kan serumlarında PPR ve SP virüsüne karşı oluşan antikor titrelerinin SN testi sonucu koruyucu seviyelerde olduğu saptandı (Tablo 1). Kontrol grubu koyunda PPR ve SP virüslerine karşı antikor titreleri saptanamadı.

**G-2'de,** SP aşısı yapılan 4 adet koyunda SP virüsüne karşı oluşan antikor titreleri sırasıyla  $\log_{10} 10^{1.5}, 10^{1.75}, 10^{1.75}$  ve  $10^{1.75}$  olarak saptandı. İki kontrol grubu koyunda SP virüsüne karşı antikor titreleri saptanamadı.

**G-3'de,** Vetal firması tarafından üretilen PPR aşısı yapılan 4 adet koyunda PPR virüsüne karşı oluşan antikor titreleri 3 koyunda  $\log_2 -1/640$  ve 1 adet koyunda  $1/1280$  olarak saptandı. İki kontrol grubu koyunda PPR virüsüne karşı antikor titreleri saptanamadı.

**G-4'de,** Her grup için 2 koyun olacak şekilde eprüve edilen hayvanlar ile kontakt temasta buldurulan altı adet koyun PPR ve SP antikorları yönünden negatif bulundu.

### Eprüvasyon çalışmaları:

**SP yönünden eprüvasyon:** G-1'de karma

aşı (PPR+koyun çiçek) ile aşılanan 4 koyun ile 2. grupta yalnız koyun çiçek aşısı yapılan 4 koyunun kontrol grubu koyunlar ile birlikte yapılan eprüvasyon işlemlerinden sonra 15 gün süreyle gözlemler sonucu kontrol grubu koyunların vücut ısıları 41-42 °C'ler arasında olduğu halde, gerek karma aşı ile aşılanan koyunların gerekse yalnız SP aşısı yapılan koyunların vücut ısılarının 39.0 °C ile 39.8 °C'ler arasında olduğu saptandı. Kontrol grubu koyunlarda SP(İ)LK<sub>5</sub> patojen saha suşu verilen inokulasyon bölgelerinde eprüvasyonun 3. gününden itibaren hiperemi, 4-5 cm eninde şişliklerin oluştuğu, 5. günden itibaren lezyonların nekroze olduğu saptanırken, gerek karma aşı (PPR+koyun çiçek) yapılan koyunlarda ve gerekse yalnız SP aşısı yapılan koyunlarda eprüvasyonun 3. günü oluşan hipereminin 4. gün kaybolduğu saptandı. Kontrol grubu hayvanlarda herhangi bir lezyonun gözlenmedi.

**Koyun vebası (PPR) yönünden eprüvasyon:**  $GID_{50}$  titresini  $10^6/ml$  olarak saptanan PPR(P)  $V_7$  patojen koyun vebası virüsü verilen G-1 ve G-3'lardaki koyunların enjeksiyonu takiben PPR virüsü inokule edilen 4 adet kontrol koyunun vücut ısılarının eprüvasyonu takiben 5. günde 40-41°C dereceleri arasında olduğu belirlendi. Hayvanların 5 gün süreyle devam eden ateşlerinin 11. günde normal seviyeye indiği (39-39.8 °C) saptanırken, kontakt bulaşma için konan 2 koyunun vücut ısıları eprüvasyonun 10. gününde 40 °C'ye çıktığı ve hayvanlarda görülen ateşin 40-41 °C'ler arasında 5 gün sürdüğü ve 18. gün vücut ısılarının normal seviyeye indiği saptandı. Eprüve edilen ve kontakt temasta bırakılan koyunlarda klinik belirtiler olarak gözyaşı ve burun akıntısı, öksürük, hafif ishal, ağız mukozasında hiperemi, iştahsızlık ve lenf yumrularında büyüme saptandı. Koyunların ağızlarında eroziv lezyonlar ve kanlı ishal görülmedi. Hasta hayvanların otopsislerinde, ince bağırsaklarda kanama ve lezyonlar görülmedi. Akciğerlerde apikal loplarda pneumonia saptandı.

Koyunların burun akıntılarında PPR virüsü izole ve tanımlanarak edildi. Hasta hayvanlardan eprüvasyonun 16. gününde alınan kan serumlarında PPR virüsüne karşı antikor varlığı tespit edildi. Karma aşı ile aşılanan 4 koyunla birlikte yalnız PPR aşısı yapılan koyunlarda 20 günlük çalışma süresince vücut ısılarının 39-39.8 °C'ler arasında

kaldığı saptandı.

**Tablo 1.** Karma aşı (PPR ve SP aşısı) ile aşılanan koyunlarda PPR ve SP aşı virüsüne karşı oluşan antikor titreleri

	Kulak No							
	103	104	105	106	211	224	225	226
<b>A</b>	1.75	1.75	1.75	1.50	1.75	1.75	1.50	1.50
<b>B</b>	1/1280	1/640	1/640	1/1280	1/640	1/640	1/1280	1/640

**A:** SP'ye karşı oluşan antikor titreleri  $\log_{10}$

**B:** PPR virüsüne karşı oluşan antikor titreleri  $\text{Log}_2$

**Potens testi:** 100X ve 1/10 dozlarda karma aşı uygulaması yapılan koyunların kan serumlarında SP'ye karşı antikor titreleri 3 koyunda  $\log_{10}$   $10^{1.5}$ , 5 koyunda ise  $10^{1.75}$  olarak saptanırken PPR virüsüne karşı antikor titreleri 4 adet koyunda  $\log_2$  1/1280, 4 koyunda 1/640 olarak saptandı. Her gruptan 2 koyun PPR virüsü ve 2 koyun'da SP patojen virüsü ile yapılan eprüvasyon işlemleri sonucu eprüvasyondan 15 gün sonra 100X ve 1/10 oranında aşılanan koyunlarda PPR ve SP hastalığı belirtileri oluşmaz iken kontrol hayvanlarda hastalık belirtileri saptandı.

**Zararsızlık testi:** Onbeş günlük gözlem periyodu sonunda kobaylarda aşı inokulasyonu yapılan bölgelerinde her hangi bir lezyon saptanmadı. Kobayların klinik gözlemlerinde her hangi bir hastalık belirtileri göstermedikleri gözlemlendi. Farelerde yapılan çalışmada farelerde klinik muayeneler sonucu herhangi bir hastalık belirtisi görülmedi.

## TARTIŞMA

SP ve PPR infeksiyonları Afrikada, Orta Doğu ülkeleri ve ülkemizde koyun yetiştiriciliğinde büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Özellikle 2000'li yılların başından itibaren ülkemizde saptanan ve hızla tüm bölgelere yayılan PPR hastalığı ile SP hastalığı ülkemizde aynı illerimizde beraber seyretmektedir. Bu hastalıkla mücadelede aynı ilde SP ve PPR hastalıklarına karşı aşılama ayrı ayrı yapılmakta bu da zaman ve maddi kayıplara neden olmaktadır. Bu çalışma ile özellikle yıllardır her iki hastalığın sık sık görüldüğü illerde bir seferde iki hastalığa karşı tek bir aşılamaya ile hayvanların bağışık kılınması amacıyla SP ve PPR karma aşısının kullanılmasına yönelik kombi-

ne aşının bağışıklık ve zararsızlık testleri gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışma ile SP ve PPR aşı virüslerini içeren kombine aşı ile aşılanan koyunlarda SP'ye karşı oluşan bağışıklık çalışmaları ile elde edilen veriler değerlendirildiğinde; gerek karma aşı ile aşılanan koyunlarda ve gerekse yalnız SP aşısı ile aşılanan koyunlarda aşılamalardan 21 gün sonra kan serumlarında SP virüsüne karşı oluşan antikor titreleri  $\log_{10}$   $10^{1.5-1.75}$  arasında saptanmıştır. Martin ve ark. (19,20), SP aşısı uygulamasından sonra oluşan antikor düzeylerinin SNT ile  $\log 10^{0.80-10^{3.0}}$  arasındaki değerlerde saptandığında hayvanların bağışık olduğunu,  $\log 10^{0.50-10^{0.79}}$  arasındaki değerlerde saptanan antikor titrelerinin şüpheli değerler olduğunu,  $\log 10^{-0.49}$ 'den düşük değerlerde saptanan titrelerde koyunların bağışık olmadığını bildirmişlerdir. Erhan ve ark. (10), attenuue Bakırköy SP aşısı ile aşılanmış koyunlarda meydana gelen bağışıklığı SNT ile kontrol etmişler ve  $10^{-0.00-0.50}$  log negatif,  $10^{-0.51-0.80}$  log şüpheli ve  $10^{-0.81}$  log dan yukarı değerleri pozitif olarak değerlendirmişlerdir. Bu çalışma sonucu elde edilen değerler Erhan ve ark. (10), ile Martin ve ark. (19,20)'larının belirttiği SP'ye karşı koruyucu antikor düzeylerinde yer almaktadır.

Deneysel olarak meydana getirilen SP hastalığında koyunlarda tipik çiçek lezyonları oluşmaz. Yalnız vücut ısıları yükselir ve sonradan normale döner. Bazı koyunlarda deri içi inokulasyonun 3. gününden itibaren ödemli eritematöz nodül şekillenir. Bu odak 6-7 güne kadar yavaş yavaş büyür ve 3-5 cm çapına ulaşır. Oluşan papüllerin bir kısmı nekroza uğrar ve nekrotik bir membran oluşur (11). Martrenchar ve ark. (21), PPRV 75/ PPR Nijerya aşısı ile RM 65 SP aşısının keçilerde birlikte kullanılması üzerine yaptıkları çalışmada, keçileri PPR ve RM65 SP aşısı ile aşılamışlar ve bir ay sonra keçilerdeki her iki virüse karşı bağışıklığı SN testi ve eprüvasyon ile araştırmışlardır. Karma aşı yapılan keçilerde PPR aşı virüsüne karşı yeterli seviyede antikor oluştuğunu, eprüvasyon çalışmalarında keçilerin hastalanmadığını, buna karşın SP aşı virüsüne karşı keçilerde yeterli düzeyde antikor oluştuğu halde yerel GPV ile yapılan eprüvasyonda keçilerin korunmadığını bildirmişlerdir. Martrenchar ve ark.(21)'nin bu çalışmasında kullanılan RM65 SP aşı suşu yalnız SP'ye karşı koyunları korumakta ve keçi çiçeğine kar-

şı korumadığı için keçilerde kullanılmamaktadır (2). Bundan dolayı Martrenchar ve ark.(21)'ları bu çalışmanın hem koyunları ve hem de keçileri koruyan koyun-keçi çiçek aşısı ile tekrarlamasının uygun olacağını bildirmişlerdir. Tarafımızdan yapılan çalışmada, SP'ye karşı aşı suşu olarak koyun ve keçilerde yeterli düzeyde bağışıklık oluşturan çiçek aşı kullanıldı. Bu çalışmada kontrol koyunlarda patojen virüs inokulasyonu yapılan deri bölgelerinde nekroz, hiperemi, deri kalınlaşması ve 41-42 °C ateş oluşurken, gerek karma aşı (PPR+Koyun çiçek) yapılan koyunlarda ve gerekse yalnız SP aşısı yapılan koyunlarda eprüvasyon çalışmaları sonucu patojen SP inokulasyonu yapılan deri bölgelerinde söz konusu lezyonlar ve yüksek ateş görülmemiş ve dolayısıyla koyunların korunduğu saptanmıştır.

Gülyaz ve ark. (12), PPR yerel virüs izolatu ile koyunlarda yaptıkları patojenite çalışmalarında eprüvasyonu takiben 5. günde koyunlarda vücut ısılarının 40-41.5 °C'ye yükseldiği, ısı artışlarının 4-5 gün sürdüğü, klinik bulgular olarak koyunlarda göz yaşı ve burun akıntısı, öksürük, ağız mukozasında hiperemi olduğu, yapılan otopside akciğerlerin apikal loplarda lezyonların meydana geldiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada PPR saha izolatu ile eprüve edilen kontrol grubu koyunlarda Gülyaz ve ark. (12), tarafından bildirilen PPR hastalığına özgü belirtilerin ortaya çıkmasına karşın gerek karma aşı (PPR+Koyun çiçek ) ve gerekse yalnız PPR aşısı yapılan koyunlarda söz konusu belirtilerin görülmemesi nedeniyle koyunların PPR hastalığına karşı bağışık kılındığı kanaatine varılmıştır.

PPR aşısı ile aşılanan hayvanlarda koruyucu antikor titrelerinin SN testi ile en az 1/10 dilüsyondaki serumun 100 DKID<sub>50</sub>/0.1ml titredeki virüsü nötralize etmesi gerekmektedir (3). Bu çalışmada hem karma aşı ile aşılanan koyunlarda hem de yalnız PPR aşısı yapılan koyunlarda PPR virüsüne karşı elde edilen antikor titreleri log<sub>2</sub> 1/10 değerinin üzerinde saptanmıştır. Ayrıca kobay ve farelerde yapılan güvenlik testlerinde aşının zararsız olduğu görülmüştür.

Sonuç olarak, karma aşı ile aşılanan hayvanlarda gerek PPR ve SP virüsüne karşı oluşan antikor titrelerinin bağışıklık için yeterli düzeyde oluşması ve gerekse aynı hayvanlarda eprüvasyon

çalışmaları sonunda PPR ve SP hastalığına ait belirtilerin oluşmamasından dolayı PPR ve SP aşı suşlarını içeren karma aşının koyunlarda her iki hastalığa karşı bağışıklık sağladığı ve zararsız olduğu kanaatine varılmıştır.

## KAYNAKLAR

1. Anon. (1979): Koyun – keçi çiçek aşısı üretim ve kontrol protokolü. Pendik Vet. Kont. ve Araş. Enst. İstanbul.
2. Anon. (2008): Office international des epizooties. Manuel of standards for diagnostic tests and vaccines. OIE press.Paris. 1058-1068.
3. Arık, F. (1971): Koyun çiçeği. Pendik Vet. Kont. ve Araş. Enst. yayınları. Hilal matbaacılık koll. şti., İstanbul. 24-30
4. Burgu, İ. (2001): Prevalance, distribution and host range of peste des petits ruminants virus in Turkey. Project termination Report.
5. Busby, D.W.G., House W. and Macdonald, J.R. (1964): Virological Technique. 1.ed. Churchill Ltd. London, 95-136
6. Carn, V. M. (1993): Control of capripoxvirus infections. Vaccine. 11 1275- 1279
7. Davies, G. (1996): Capripox virus vaccine production and quality control Protocol.
8. Davies, F.G. and Mbugwa, G. (1985): The alterations in pathogenicity and immunogenicity of a kenya sheep and goat pox virus on serial passage in bovine foetal muscle cell cultures. J. Comp. Pathol. 95 565-557
9. Ergin, H., Köklü, A. ve Onar, B. (1986): Keçi çiçeğine karşı kuzu böbrek hücre kültüründe aşı hazırlanması ve aşının keçilerde bağışıklık denemeleri. Pendik Vet. Kont. ve Araş. Enst. Derg. 19, 60-65.
10. Erhan, M. , Ergin, H. ve Onar, B. (1979): Sahada liyofilize koyun çiçek aşısı ile aşılanan koyunlarda meydana gelen bağışıklığın değerlendirilmesi. Türkiye Bilimsel ve Teknik

- Araştırma Kurumu Projesi. Proje No: VHAG 6-327.
11. Güler, A. (1978): Deneysel koyun çiçeği hastalığının patogenezinin FAT ve histopatolojik yoklamalarla incelenmesi. Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu Projesi. Proje No. VHAG-223. 54-67.
  12. Gülyaz, V., Çelen, N. ve Özkul, A. (2005): Koyun ve Keçi Vebası (PPR-pestes des petits ruminants) virüs izolasyonu, patojenitesi ve vero hücre kültüründe attenüasyonu. Pendik Vet. Kont. ve Araş. Enst. Derg., 36, 15-20.
  13. Haroun, M., Hajer, I., Mukhtar, M. and Ali, B.E. (2002): Detection of antibodies peste des petits ruminants virus in sera of cattle, camels, sheep and goats in Sudan. Vet. Res. Commun. 26, 537-541.
  14. Krishnan, R. (1968): Pathogenesis of sheep pox. Indian Vet. J. 45, 297-302.
  15. Kitching, R.P. (1986): Passive protection of sheep against capripox virus. Res. Vet. Sci. 41, 247-250.
  16. Kitching, R.P. and Carin, V.M. (1994): Sheeppox and goatpox. OIE Manuel. OIE Press. Paris, 2, 1-11.
  17. Kitching, R.P. and Mellor, P. S. (1986): Insect transmission of capripox virus. Res. Vet. Sci. 40, 255-258.
  18. Kurtul, Y. ve Gürel, A. (1975): Gebeliğin değişik dönemlerinde koyun çiçek aşısı ile aşılanmış koyunların kolostrum ve sütlerindeki nötralizan antikör seviyeleri. Pendik Vet. Kont. ve Araş. Enst. Derg. 23, 57-60.
  19. Martin, W. B., Ergin, H. and Köylü, A. (1973): Tests in sheep of attenuated sheep pox vaccines. Res. Vet. Sci. 14, 53-61.
  20. Martin, W. B., Erhan, M. ve Onar, B. (1975): Koyun çiçeği aşısı üzerinde çalışmalar ve serum nötralizasyon testleri. Pendik Vet. Kont. ve Araş. Enst. Derg. 8, 26-47.
  21. Martrenchar, A., Zoyem, N. and Diallo, A. (1997): Experimental study of a mixed vaccine against peste des petits ruminants and capripox infection goats in northern Cameroon. Small Rum. Research 26, 37-44
  22. Ngichabe, C. K., Wamwayi, H. M., Barrett, T. Ndungu, E. K., Black, D. N. and Bostock, C. J. (1997): Trial of a capripox virus-rinderpest recombinant vaccine in african cattle. Epidemiol. Infect. 118, 63-70.
  23. Özkul, A., Akça, Y., Aklan, F., Barrett, T., Karaoğlu, T., Dağalp, S.B., Anderson, J., Yeşilbağ, K., Çokçalışkan, C., Gençay, A. and Burgu, İ. Prevalence, Distribution and Host Range of Peste des petits ruminants virus, Turkey. Emerg. Infect. Disease. Vol. 8, No: 7, July 2002.
  24. Taylor, W.P. and Abegunde, A. (1979): The isolation of peste des petits ruminants virus from Nigerian sheep and goats. Res. Vet. Sci. 26, 94-96.
  25. Uppal, P. K., Nilakantan, P. R. and Sakku-bai, P. R. (1967): Observations on the use of live and inactivated virus vaccines against sheep pox. Indian Vet J. 44, 815-827.