

Gumboro Hastalığı:

Deventer Formülü İle Optimal Aşılama Zamanının Saptanması

J J de Wit, DVM, PhD
Animal Health Service, POB 9,
7400 AA Deventer, the Netherlands

Gumboro aşıları dünya çapında kullanılmaktadır fakat hepsinin ortak problemleri vardır ki bu da aşılama için doğru zamanın (yaşın) belirlenmesidir. Maternal antikör (MDA) düzeyi çok yüksek olan civcivlere canlı IBD aşısı uygularsanız, bu antikörlerle aşı nötralize edilecek ve sonuç olarak aşı koruma sağlamayacaktır. Diğer taraftan kümesi erken dönem enfeksiyonlara karşı korunmasız bırakacağından, aşılama için çok uzun süre beklemek istenmez.

Test yapmaksızın bir civcivin annesinden ne kadar miktarda antikör aldığını tam olarak bilmek mümkün değildir. Teorik olarak, yağ-bazlı inaktif Gumboro aşısı ile aşılamanın tavukların yavrularında sadece canlı aşılama ile aşılama zamanının saptanmasında kullanılan temel kural basittir. Örn: Çok erken bir yaşta MDA seviyelerini ölçülür ve civcivlerde MDA seviyelerinde düzenli bir düşüş (log₂ skalası) olduğundan, MDA seviyelerinin aşılamanın yapılabilmesi için ne zaman yeteri kadar düştüğü tahmin edilebilir.

Gumboro virüsü çevrede bulunduğunda, mümkün olduğunca çabuk aşılama yapılmak istenir. Bu gibi durumlarda optimal aşılama zamanının saptanmasına yardımcı olmak ve aşılama gününün saptanmasının kolaylaştırmak için bir yöntem geliştirilmiştir. Optimal aşılama zamanının saptanmasında kullanılan temel kural basittir. Örn: Çok erken bir yaşta MDA seviyelerini ölçülür ve civcivlerde MDA seviyelerinde düzenli bir düşüş (log₂ skalası) olduğundan, MDA seviyelerinin aşılamanın yapılabilmesi için ne zaman yeteri kadar düştüğü tahmin edilebilir.

Sahada optimal aşılama zamanının saptanması için birçok formül kullanılmıştır. İlk formüllerden biri, 80'lerin sonunda Dr. Ben Kouwenhoven (kanatlı Sağlığı Enstitüsü, Doorn, Hollanda, günümüzde Hayvan Sağlığı Servisi, Deventer, Hollanda ile birleşmiştir) tarafından geliştirilmiştir. Bu formül 'intermediate aşılama' kullanımını için geliştirilmiş ve o zamanlarda Gumboro ile başa çıkmada yardımcı olmuştur. Sahadaki durum değiştiğinden, bu formül Hollanda'da bulunan Hayvan Sağlığı Servisi (GD)'nin 'deventer formülü' ile değiştirildi. Bu formül Hollanda da 1990'dan beri kullanılmaktadır.

IBD'ye karşı en iyi aşılama zamanının saptanmasında formül için gerekli olan birkaç husus şunlardır:

- 1) Kümes başına düşen örnek miktarı. Kümesi temsil edecek örnek miktarının sağlanması için kümes başına minimum 18 örnek alınmalıdır. 18 örnekten daha az sayıda örneklere dayalı yapılan saptamalar daha az güvenilirdir. Kümes başına sadece 10-15 örnek alarak tasarruf etmeye çalışmak yanlış bir ekonomidir. Eğer 2 farklı kümede bulunan yavrular tek bir damızlık kümeden geliyorsa bu kümeslerden sadece birinin örneklenmesi yeterlidir.

- 2) Örnekleme için kullanılacak hayvanların kalitesi. Örnekleme için yüksek kalitede tavuklar seçilmelidir. Örnekler bu hayvanlar kümesin tamamını temsil edemeyeceği için kötü kalitede, hasta veya stresli tavuklardan seçilmemelidir.

Eğer bu durumlar karşılanmazsa, optimal aşılama zamanı güvenli bir biçimde saptanamaz.

Daha eski formüllerle karşılaştırıldığında Deventer formülünün avantajları:

1. Bütün kanatlı türleri için uygundur: broyler, damızlık ve yumurtacılar kullanılabilir
2. Testler için alınacak örnekler kuluçkadan çıkım sonrası 1-10 gün gibi esnek bir zaman aralığında alınabilir
3. Hem üniform hem de üniform olmayan titre dağılımına sahip kümeslerde kullanılabilir.
4. Bir çok Gumboro aşısı için uygundur.

Deventer Formülünün Teorik Temeli

1. Maternal antikor (MDA) seviyelerinin düşüşü tavuğun türüne bağlıdır. Bu düşüş, metabolizma ve büyüme oranı ile ilişkilidir. Ölçülen 'yarılanma ömrü', 'altın standart' olan. Virüs nötralizasyon testi ile broylerler için 3-3,5. günde, damızlıklar için 4,5. günde ve yumurtacılar için 5,5. gün olarak bulunmuştur. Her hangi bir yarılanma ömrü testi Deventer formülünde kullanılabilir. Tablo 1 ve 2'de örnekleme zamanından optimal aşılama zamanına kadar beklenmesi gereken gün sayısı verilmektedir (bakınız paragraf 4).

2. Maternal antikor seviyeleri (titreleri) hayatın ilk 4 günü boyunca hemen hemen aynı kalır (yumurta sarısının emilimi, metabolizma ve büyüme ile düşen titreleri telafi eder). 4 günlük yaştan itibaren titre her yarılanma ömrü zamanı başına $1 \log_2$ basamak düşer. Deventer formülü, 4 günden küçük civcivlerin serumlarıyla yapılan tayinlerde bu fenomeni telafi edecek şekilde düzenlenmiştir. Örneğin, hesaplamalar 2 günlük civcivlerin kan serumlarından yapılıyor ise ve aşılama için uygun antikor seviyelerine düşüş 13 gün olarak bulunuyor ise, hayvanların yaşları nedeni ile 2 ekstra gün bu sayıya eklenir. (bu örnek için . örnek alımından 15 gün sonra aşılama). Aynı titre 4 günlük civcivlerde bulunur ise o zaman ekstra gün eklemeye gerek yoktur. (örnek alımından 13 gün sonra aşılama).

Özet olarak; günlük civcivlerin kanından yapılan örnekleme 4 gün; 1 günlük civcivlerin kanından yapılan örnekleme 3 gün; 2 günlük civcivlerin kanından yapılan örnekleme 2 gün; 3 günlük civcivlerin kanından yapılan örnekleme 1 gün eklenir (Tablo 3). Eğer yüksek titre sonuçları bekleniyorsa daha ileri bir yaşta kan örnekleri alınması tavsiye edilir. Örneğin, günlük yumurtacı civcivler, broylerlere oranla daha yüksek MDA'lara sahiptirler ve bazı ELISA'lar belirli seviyelerin üzerinde antikorları tespit etme yeteneğine sahip değildirler. Bu nedenle 10-14. günlerde örnekleme yapmak 0. günde örnekleme yapmaya oranla daha güvenilir sonuçlar elde edilmesini sağlayacaktır.

3. Eski formüllerde tüm tayinler kan örneklerinin ortalama titrelerine dayanırdı. Üniform titreler sahip bir küme bu bir problem oluşturmaz. Gereçekte, titreler genellikle üniform (birörnek) değildir. Bu farklılık, civcivlerin değişik kümeslerden veya inaktif aşılarla aşılanmamış kümeslerden getirilmesi nedeni ile oluşabilir.

Deventer Formülünde, tayinlerin temeli kümeden alınan kan örneklerinin ortalama titrelerine dayanmaz. Kümesin belirli bir kısmının başarılı olarak aşılanabileceği titre düzeylerine dayanır.

Saha deneyimlerine göre, Deventer formülü'nde, yeterli bulunan %75'lik oran kullanılır. Genel kural, aşılanmanın en son cevap verene kadar geciktirilememesidir. Bu, kümesi çok uzun süre riskte bırakır. Ayrıca, en son yanıt verecek tavuğa kadar beklemek gerekli değildir, çünkü kümesteki aşılamadan sonra aşı birkaç gün etrafa yayılacaktır. Bu da ilk aşılama esnasında aşığı almayan tavukların (yüksek MDA'ları nedeniyle) diğerleri tarafından aşılacağı anlamına gelir (aşının doğru uygulanmasıyla kümesin %75'inin başarılı bir şekilde aşılandığı kabul edilirse). Gumboro aşısı virusunun kümes içi yayılımı konusunda, kafeslere oranla kalın altlıkların kullanıldığı kümeslerde hayvanlar arasında daha kolay yayıldığını unutmamak gerekir.

4. Aşılar MDA'yı kırma titrelerine göre farklılıklar gösterirler. 'Intermediate plus' aşılar intermediate aşılarla oranla daha yüksek seviyelerdeki maternal kaynaklı antikorları aşabilirler. Formülde aşının MDA'yı kırma titresi kullanılır. LZ 228E gibi 'intermediate plus' aşılar için prosedür ve Dr. B. Kouwenhoven tarafından belirlenen kırma titresi 500 (Idexx standart ELISA)'dır. Intermediate aşı D78 için kırma titresi yaklaşık 125 (Idexx standart ELISA)'dır. Eğer diğer aşılar veya ELISA'lar kullanılırsa, aşının ve ELISA kitinin kırma titreleri üretici firmadan temin edilmelidir.

Deventer Formülü şu şekildedir:

Aşılama yaşı = $\{(\log_2 \text{saptanan titre } \% - \log_2 \text{MDA kırma titresi}) \times t_{-}\} + \text{örneklenme yaşı}$
+ **düzeltilme faktörü 0-4**

Formülde

Saptanan titre % = kümesin belirli bir yüzdesini temsil eden hayvanlara ait saptanan ELISA titre değeridir.

MDA kırma titresi = kullanılan aşının MDA'yı kırma (ELISA) titresidir.

t₋ = örnek alınan tavukların türüne göre antikorların yarılanma ömrüdür (ELISA).

örnekleme yaşı = kanatlıların örnekleme dönemindeki yaşıdır.

Düzeltilme faktörü 0-4 = örnekleme 0-4 günlük iken yapılmış ise eklenen ekstra gündür.

Deventer formülünün nasıl çalıştığını göstermek için aşağıda 5 örnek verilmiştir. Her bir örnek için ELISA titreleri tablo 4'de verilmiştir.

Örnek A

Idexx ELISA standartıyla 2 günlük broilerlerden alınan 20 örnek test edilmiş ve titreler 2294-5304 arasında bulunmuş (Tablo 4) ve kullanılmak istenen aşı, MDA kırma titresi 125 olan intermediate bir aşı ise :

Eğer örnekler 4. günde alınmış olsaydı, en düşük MDA titresine sahip civciv (2294) örneklemeden sonra 13. günde aşılanabilirdi (bakınız Tablo 1). Kan örnekleri 2 günlük civcivlerden alındığı için, telafi için 2 gün eklenir (bakınız Tablo 3), böylelikle önerilen aşılama yaşı, örneklemeden sonra 13+2=**15'inci gündür.**

En yüksek titreye sahip civciv (5304) örneklemeden sonra 17 (bakınız Tablo 1) + 2 (bakınız Tablo 3) = **19. günde** aşılabilir. Fark sadece 4 gündür, bu da çok iyi bir üniformiteyi gösterir.

Eğer sorumlu kişi “intermediate plus” bir aşı (aşma titresi 500 olan) kullanmak isterse, aşılama 6 gün önce yapılabilir (bakınız Tablo 1).

Örnek B

Idexx ELISA standartıyla 1 günlük broylerlerden alınan 18 örnek test edilmiş ve titreler 235-4886 arasında bulunmuş (Tablo 4). Kullanılmak istenen aşı, MDA kırma titresi 125 olan intermediate bir aşı ise.

En düşük titreye sahip hayvan, örneklemeden sonra 3 (bakınız Tablo 1) + 3 gün (1 günlük yaşta yapılan örnekleme için eklenen telafi süresi (bakınız Tablo 3) **6. günde** aşılabilir. En yüksek titreye sahip tavuk (5304) örneklemeden 16+ 3 = **19. gün sonra** aşılabilir. Fark 13 gündür, buda kötü bir üniformiteyi gösterir. Çiftlikteki Gumboro riskine bağlı olarak, örneğin kümesin %40 ve %90'ı aşılanaabileceği halde iki kere aşılama yapmak akıllıca olmaz. Bu verilerin hesaplanabilmesi için Deventer formülü, ilk %40'lık için (1171 titrelili 7 numaralı tavuk) ve %90'lık için (3968 titrelili 16 numaralı tavuk) uygulanmalıdır. Sonuç olarak, örneklemeden **13** {10 (Tablo 1) + 3 (Tablo 3)} ve **18** {15 (Tablo 1) + 3 (Tablo 3)} gün sonra aşılama yapılmalıdır.

Örnek C

Titreleri 245-4792 arasında değişen 7 günlük yumurtacılarından alınan 20 örnek (Tablo 4) ve Kullanılacak aşı sadece tek doz ve MDA kırma titresi 500 olan intermediate plus bir aşı ise:

Kümesin %75'nin ne zaman aşılanaabileceğinin saptanması için en yüksek 5 titre göz ardı edilir. Geriye kalan en yüksek titre 2761'dir. Intermediate plus aşı kullanılarak, kümesin bu kısmı örneklemeden **20 gün sonra** (örnekleme yaşı 7 gün + 13 (Tablo 2) + 0 (Tablo 3)) aşılabilir.

Örnek D

0 günlük broylerlerden alınan 8 örnek. Optimal aşılama zamanının saptanması için alınan örnek sayısı çok düşüktür. Aşının hangi günde yapılması hakkındaki tavsiyede bulunmaktan kaçınılmalı ve hayvan sahibine yazılı olarak sayının çok az olduğu bildirilmelidir.

Örnek E

Idexx ELISA standartıyla 1 günlük broylerlerden alınan 18 örnek test edilmiş ve titreler 1570-5722 arasında bulunmuştur (Tablo 4). MDA kırma titresi 125 olan intermediate bir aşı kullanılıyor ve 10 ve 17. günlük yaşlarda aşılama tercih ediliyor. Son birkaç kümesinde kesim yaşında (39 günlük) alınan kan örneklerinin bazıları ELISA negatif olarak saptanmış ise:

Gumboro'ya karşı aşılana hayvanlar kesim yaşında hala ELISA'da negatifse, aşılama programının ve aşı uygulamalarının kontrol edilmesi iyi olacaktır. Kesimhanedeki negatif ELISA sonuçları, hayvanların hastalığa karşı yetersiz korunmalarının güçlü bir belgesidir.

Eğer kümeste intermediate aşı kullanılacak ve 10 günlük yaşta aşılama yapılacak ise, 512'den düşük titrelere sahip 1 günlük tavuklar aşığı alacaktır (512'nin 125'e düşmesi için 6 günlük bekleme süresi (Tablo 1) + 3 gün (1. gün alınan kan örnekleri için düzeltme faktörü (bakınız Tablo 3))).

Bu kümesin titrelere bakıldığında (Tablo 4), 10 günlük yaştaki hiçbir hayvan aşığı almayacaktır. Her ne kadar bütün hayvanlardan örnek alınmasa da 10. günde sadece kümesin çok az bir kısmı (eğer varsa) başarılı bir şekilde aşılacaktır.

Eğer kümes 17. günde intermediate bir aşı kullanılarak aşılansmış olsaydı, 1 günlük yaşta 2280'nin altındaki titrelere sahip hayvanlar aşığı alabilirdi (2280'nin 125'e düşmesi için 14 günlük bekleme süresi(Tablo 1) + 3 gün (1. günde alınan kan örnekleri için düzeltme faktörü (bakınız Tablo 3))).

Bu kümeden alınan verilere bakarak (Tablo 4), 18 hayvandan 9'u 17. günlük yaşta aşığı alabilirdi.

Özet olarak, bu kümesin 10 günde aşılansması çok erken olacaktır. Hatta 17. günde yapılan aşılama bile erken sayılabilir. Saha enfeksiyonu için büyük olasılıkla yetersiz koruma sağlar. Daha önceki kümeslerde benzer titrelerde maternal antikor bulunduğundan, bu aşılama programı, kesimhanedeki ELISA sonuçlarıyla gösterildiği gibi yetersiz aşılama nedeni olabilir.

Tablo 1: Örnekleme günü broilerlerde ölçülen titre (IDEXX ELISA) ile Deventer Formülüne göre Gumboro (intermediate plus ve intemediate) aşılarının kırma titrelerine ulaşılan gün arasındaki bekleme süresi.

Örneklemeden sonra beklenmesi gereken gün sayısı	Broyerlerin titresi t = 3 gün, aşma titresi 500	Broyerlerin titresi t = 3 gün, aşma titresi 125
3	0 - 1024	0 - 256
4	1025 - 1290	257 - 322
5	1291 - 1629	323 - 407
6	1630 - 2048	408 - 512
7	2049 - 2580	513 - 645
8	2581 - 3258	646 - 815
9	3259 - 4096	816 - 1024
10	4097 - 5159	1025 - 1290
11	5160 - 6502	1291 - 1629
12	6503 - 8192	1630 - 2048
13	8193 - 10319	2049 - 2580
14		2581 - 3258
15		3259 - 4096
16		4097 - 5159
17		5160 - 6502
18		6503 - 8192
19		8193 - 10319

Tablo 2: Örnekleme günü yumurtacılar da ölçülen titre (IDEXX ELISA) ile Deventer Formülüne göre Gumboro (intermediate plus ve intemediate) aşılarının kırma titrelerine ulaşılan gün arasındaki bekleme süresi.

Örneklemeden sonra beklenmesi gereken gün sayısı	Broyerlerin titresi t = 3 gün, aşma titresi 500	Broyerlerin titresi t = 3 gün, aşma titresi 125
5	0 - 1024	0 - 256
6	1025 - 1160	257 - 294
7	1161 - 1314	295 - 329
8	1315 - 1499	330 - 372
9	1500 - 1698	373 - 423
10	1699 - 1924	424 - 481
11	1925 - 2180	482 - 545
12	2181 - 2469	546 - 617
13	2470 - 2798	618 - 699
14	2799 - 3169	700 - 798
15	3170 - 3591	799 - 904
16	3592 - 4096	905 - 1024
17	4097 - 4640	1025 - 1160
18	4641 - 5257	1161 - 1314
19	5258 - 5997	1315 - 1499
20	5998 - 6794	1500 - 1698
21	6795 - 7697	1699 - 1924
22	7698 - 8719	1925 - 2180
23	8720 - 9878	2181 - 2469
24	9879 - 11191	2470 - 2798
25	11192 - 12678	2799 - 3269
26	12679 - 14362	3270 - 3591
27	14363 - 16384	3592 - 4096
28		4097 - 4640
29		4641 - 5257
30		5258 - 5997
31		5998 - 6794
32		6795 - 7697

Tablo 3: Düzeltme faktörü: Kan örneklemelerinin 0-4. günlerde yapıldığında aşılardan önce eklenmesi gereken ekstra gün sayısı (broilerler, damızlıklar ve yumurtacılar).

Örnekleme yaşı	Ekstra bekleme günü
0	4
1	3
2	2
3	1
4 veya daha yaşlı	0

Tablo 4: 20 broilere ait ölçülen Gumboro ELISA titreleri (IDEXX).

Örnek numaraları	Örnek A Titreleler	Örnek B titreleler	Örnek C titreleler	Örnek D titreleler	Örnek E titreleler
1	2294	235	245	2912	1570
2	2556	379	632	3267	1831
3	2821	802	710	3799	1160
4	3030	885	1165	3943	2533
5	3287	938	1237	4182	2975
6	3322	1075	1247	4840	3093
7	3415	1171	1294	5312	3111
8	3439	1299	1435	5998	3129
9	3451	1332	1471		3229
10	3462	1342	1565		3747
11	3698	1364	1601		3956
12	3900	1658	1877		4165
13	4007	3724	2132		4240
14	4126	3802	2191		4356
15	4584	3835	2761		4426
16	5174	3968	3099		4547
17	5274	4328	3339		5567
18	5259	4886	3661		5722
19	5300		4195		
20	5304		4795		
	2 günlük broilerler	1 günlük broilerler	7 günlük yumurtacılar	0 günlük broilerler	1 günlük broilerler

Deventer Formülünün mantığı anlaşıldıktan sonra, esnekliğinden dolayı (bütün tavuk türleri, bütün örnekleme yaşları, kümesin ayarlanabilir yüzdesi ve farklı aşılar) kullanımı oldukça kolaydır.

NOT:

1. Deventer formülünde, altın standart olan Virüs nötralizasyon testi, ile ölçülen antikorların yarılanma ömrü temel alınmıştır. Deventer formülü, ELISA ile ölçülen yarılanma ömrü süresi ve VN-testi arasında iyi korelasyon olduğu sürece geçerlidir. Farklı ELISA'ların VNT ile farklı korelasyonları olabilir. MDA kırma titreleri IDEXX standart ELISA ile saptanır ve üretici firma tarafından onaylanmadığı sürece başka ELISA'larla kullanılamaz. Eğer Deventer formülü onay alınmadan (bunun için yarı ömür sürelerinin VNT ile karşılaştırılması, kırma titreleri, tekrarlanabilir test sonuçları vb. gereklidir). Diğer ELISA'lar ile farklılıklar oluşabilir. Deventer formülünün kullanımı hakkında daha fazla bilgi için ELISA üretici firma temasa geçilmelidir.

2. Gumboro aşılmasının yapılacağı optimal günün saptanması (hangi formül kullanılırsa kullanılsın) sadece aşının kümesin optimal yaşında uygulanması için kullanılan bir araçtır. Garanti değildir. Saf hijyen, çok yüksek enfeksiyon baskısı (velojenik saha virüsleri her hangi bir aşından çok daha yüksek MDA aşma seviyelerine sahiptirler), aşı uygulanması sırasındaki hatalar vb. de göz önünde bulundurulmalıdır. Bu nedenle aşılama konularında daima uzman bir Veteriner Hekime danışılmalıdır.