

**İNSAN DİPLOİD HÜCRESİ KUDUZ AŞISI (HDCV) İLE
İKİNCİ KUŞAK HÜCRE KÜLTÜRÜ KUDUZ AŞILARININ
ETKİNLİKLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. Nuri ÖZKÜTÜK

118478

CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği Uyarınca
Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
DOKTORA TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

118478

Danışman : Prof.Dr. Beril ÖZBAKKALOĞLU

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ
Ocak 2002

**YÜKSEKÖĞRETİM KURULU DOKÜMANTASYON MERKEZİ
TEZ VERİ FORMU**

Tez No:

Konu kodu:

Üniv. kodu:

Tezin yazarının

Soyadı: **ÖZKÜTÜK**

Adı: **NURİ**

Tezin Türkçe adı:

**İnsan Diploid Hücresi Kuduz Aşısı (HDCV) ile İkinci kuşak Hücre Kültürü
Kuduz Aşılarının Etkinliklerinin Karşılaştırılması.**

Tezin Yabancı Dildeki adı:

**The Comparison of The Effectivenesses of Human Diploid Cell Vaccine (HDCV)
and By Second Generation Cell Culture Rabies Vaccines.**

Tezin yapıldığı

Üniversite: **Celal Bayar**

Enstitüsü: **Sağlık Bilimleri**

Yılı: **2002**

Diğer kuruluşlar:

İzmir Konak Kuduz Tedavi Merkezi

Tezin Türü: **Doktora**

Dili: **Türkçe**

Sayfa sayısı: **79**

Referans sayısı: **117**

Tez Danışmanlarının

Ünvanı: **Prof.Dr.**

Adı: **Beril**

Soyadı: **ÖZBAKKALOĞLU**

Türkçe anahtar kelimeler:

- 1. Kuduz,**
- 2. HDCV**
- 3. PCEC**
- 4. PVRV**
- 5. Aşı**
- 6. Karşılaştırma**
- 7. Etkinlik**
- 8. Nötralizan antikor**

İngilizce anahtar kelimeler:

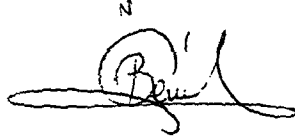
- 1. Rabies**
- 2. HDCV**
- 3. PCEC**
- 4. PVRV**
- 5. Vaccine**
- 6. Comparison**
- 7. Effectiveness**
- 8. Neutralizing antibody**

Tarih:

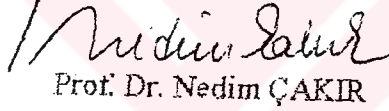
İmza :

Dr. Nuri ÖZKÜTÜK'ün DOKTORA tezi olarak hazırladığı "İNSAN DİPLOİD HÜCRESİ KUDUZ AŞISI (HDCV) İLE İKİNCİ KUŞAK HÜCRE KÜLTÜRÜ KUDUZ AŞILARININ ETKİNLİKLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI" başlıklı bu çalışma, Jürimizce Lisansüstü Eğitim Öğretim Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

15.01.2002



Prof. Dr. Beril ÖZBAKKALOĞLU
(Tez Danışmanı)



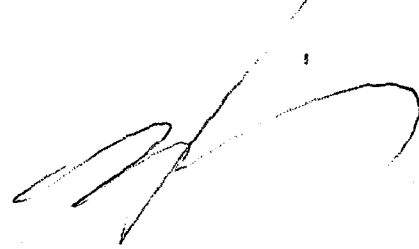
Prof. Dr. Nedim ÇAKIR



Prof. Dr. Ahmet ÖZBİLGİN

Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
17.01.2002 gün ve 2 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Ertan ÖZDEMİR
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü



ÖZET

İNSAN DİPLOİD HÜCRESİ KUDUZ AŞISI (HDCV) İLE İKİNCİ KUŞAK HÜCRE KÜLTÜRÜ KUDUZ AŞILARININ ETKİNLİKLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Dr. Nuri ÖZKÜTÜK.

Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Manisa, TÜRKİYE

Kuduz tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de güncelliğini ve önemini korumaktadır. Ülkemizde, temas sonrası profilakside, maliyeti oldukça yüksek olan doku kültürü aşıları, özellikle de insan diploid hücre kökenli aşı (HDCV) kullanılmakta ve bu durum önemli bir ekonomik kayba neden olmaktadır.

Bu çalışmada Türkiye'de kullanılmakta olan hücre kültürü aşılardan insan diploid hücresi kuduz aşısı (HDCV), pürifiye civciv embriyon hücre kültürü aşısı (PCEC) ve pürifiye vero hücre kuduz aşısı (PVRV), etkinlik ve maliyet açılarından karşılaştırılarak ülkemiz şartları için avantajlı olan kuduz aşısının saptanması amaçlanmıştır.

İzmir Konak Kuduz Tedavi Merkezi'nde değişik kuduz aşlarıyla (HDCV, PCEC, PVRV) profilaksiye başlanan olgulardan ilk doz aşından sonraki 30'uncu, 90'ıncı günlerde ve 1 yıl sonra alınan serum örneklerinde kuduz nötralizan antikor düzeyi geliştirdiğimiz Aşı Antijenli ELISA yöntemi ile saptanmıştır.

Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde HDCV, PCEC ve PVRV ile sırasıyla %99.1, %100 ve %97.8 oranında koruyucu düzeyde antikor (0.5 IU/ml) geliştiği ve aşılar arasında immunojenite açısından fark olmadığı görülmüştür. Sonuç olarak PVRV ve PCEC aşılarının HDCV aşısı kadar etkili olduğuna karar verilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kuduz, HDCV, PCEC, PVRV, aşı, karşılaştırma, etkinlik, nötralizan antikor.

SUMMARY

THE COMPARISON OF THE EFFECTIVENESSES OF HUMAN DIPLOID CELLS RABIES VACCINE (HDCV) AND BY SECOND GENERATION CELL CULTURE RABIES VACCINES

Nuri Özkütük, M.D.

Department of Microbiology and Clinical Microbiology of the Medical School of Celal Bayar University, Manisa, Turkey.

Rabies is continuing to maintain its actuality and its importance in our country as well as in the entire world. In our country, for the post contact prophylaxis, the rather costly vaccines, by tissue culture, especially vaccines by human diploid cell origin (HDCV), are being used, and this results an important economic loss.

The aim of this work has been to determine the rabies vaccine most advantageous, for our country by comparing the rabies vaccine by human diploid cells (HDCV), the purified chicken embrion cell culture vaccine (PCEC) and the purified vero cell rabies vaccine (PVRV), among tissue culture vaccines in use in Turkey, with respect of the effectiveness and the cost.

The neutralizing antibody levels have been evaluated by the "ELISA with Vaccine Antigen" method developed by us, in serum specimens obtained, in the 30 th, 90 th days and in one year after the first inoculations, from the cases who applied to the Rabies Treatment Center of Konak in Izmir where prophylaxis started which various rabies vaccines (HDCV, PCEC, PVRV).

When the results are evaluated, it was seen that with HDCV, PCEC and PVRV protective antibody (0.5 IU/ml) levels of 99%, 100% and 97.8% were developed respectively and there was no difference among the vaccines with respect to immunogenicity As a result it is decided that the vaccines PVRV and PCEC are as effective as HDCV

Key Words: Rabies, HDCV, PCEV, PVRV, vaccine, comparison, effectiveness, neutralizing antibody.

TEŞEKKÜR

Yapmış olduğum tez çalışmalarım sırasında her türlü desteği sağlayan değerli hocam, tez danışmanım Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Beril Özbakkaloğlu'na, kuduz konusundaki çalışmaları ve bilgileri ile bana yol gösteren Dr. G. Eser Ok'a ve birlikte çalıştığı İzmir Konak Kuduz Tedavi Merkezi personeline, beni yetiştiren Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalının tüm öğretim üyelerine, çalışmamın çeşitli aşamalarındaki katkıları nedeni ile Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Metin Korkmaz ve diğer öğretim üyeleri ile Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerine, Pasteur Merieux'e, ayrıca beraber çalıştığım tüm asistan arkadaşlarım ve diğer mikrobiyoloji çalışanlarına, son olarak da Tez dönemimde evde bana destek olan eşim Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Aydan Özkütük'e teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	iv
SUMMARY	v
TEŞEKKÜR	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Kuduzun Tarihçesi	2
2.2. Epidemiyoloji	4
2.3. Etkenin Özellikleri	8
2.3.1. Sınıflandırma	8
2.3.2. Morfoloji ve antijenik yapı	9
2.3.3. Direnç	10
2.4. Patogenez ve Patoloji	11
2.5. Klinik Özellikler	12
2.5.1. İnkübasyon dönemi	12
2.5.2. Prodrom dönemi	13
2.5.3. Akut nörolojik dönem	13
2.5.4. Koma dönemi	15
2.6. Komplikasyonlar	15
2.7. Tanı	16
2.7.1. Histopatolojik inceleme	16
2.7.2. Virüs izolasyonu	17
2.7.3. Serolojik testler	17
2.7.4. Virüs antijenlerinin araştırılması	18
2.8. Ayırıcı Tanı	19

2.9. Sağaltım	19
2.10. Korunma	21
2.10.1. Temas sonrası profilaksi	21
2.10.1.1. Lokal yara sağaltımı	24
2.10.1.2. Pasif antikör uygulaması ve kuduz immünglobulinler	24
2.10.1.3. Aşı uygulaması	26
2.10.2. Temas öncesi profilaksi	28
2.10.3. Evcil ve vahşi hayvan kuduzunun kontrolü	29
2.11. Kuduz Aşıları	31
2.11.1. Sinir dokusu aşıları	31
2.11.1.1. Semple aşı	32
2.11.1.2. Yeni doğan fare beyni aşısı	33
2.11.2. Embriyonlu yumurtada üretilen aşılar	33
2.11.2.1. Ördek embriyon aşısı	33
2.11.2.2. Pürifiye ördek embriyon aşısı	34
2.11.3. Hücre kültüründe üretilen aşılar	34
2.11.3.1. İnsan Diploid Hücre Kültürü Aşısı	34
2.11.3.2. Primer Hamster Böbrek Hücre Kültürü Aşısı	35
2.11.3.3. Primer Köpek Böbrek Hücre Kültürü Aşısı	36
2.11.3.4. Pürifiye Cıvciv Embriyon Hücre Kültürü Aşısı	36
2.11.3.5. Pürifiye Vero Hücre Kuduz Aşısı	36
2.11.3.6. Adsorbe Kuduz Aşısı	36
2.11.4. Rekombinant kuduz aşıları	37
2.11.4.1. Rekombinant İnsan Adenovirus Aşısı	37
2.11.4.2. Canarypox Virus Rekombinant Aşısı	37
2.11.5. Canlı virüs aşıları	38
3. GEREÇ VE YÖNTEM	39
3.1. Olguların Seçimi ve Örneklerin Alınması	39
3.2. Aşı Antijenli ELISA (AA-ELISA)	39

3.2.1 Prensip	39
3.2.2. Test için kullanılan gereçler	40
3.2.3. Kullanılan solüsyonların formülleri	41
3.2.3.1. Antijen dilüsyon solüsyonu	41
3.2.3.2. PBS	42
3.2.3.3. Yıkama ve serum dilüsyon solüsyonu	42
3.2.3.4. Bloklama solüsyonu (%3BSA-PBS)	42
3.2.3.5. Bloklama solüsyonu(Casein Buffer)	42
3.2.3.6. Substrat solüsyonu (Diethanolamin Buffer)	43
3.2.4. Yöntem ve yöntemin geliştirilmesi	43
3.2.4.1. Yöntemin geliştirilmesi	43
3.2.4.2. Yöntemin uygulanması	46
3.3. İstatistiksel Değerlendirme	48
4. BULGULAR	49
4.1. Grup Özelliklerine Göre Sonuçlar	54
4.1.1. A1 grubu sonuçları	54
4.1.2. B1 grubu sonuçları	54
4.1.3. C1 grubu sonuçları	54
4.1.4. D1 grubu sonuçları	55
4.1.5. A2 grubu sonuçları	55
4.1.6. B2 grubu sonuçları	55
4.1.7. C2 grubu sonuçları	56
4.1.8. D2 grubu sonuçları	56
4.1.9. A3 grubu sonuçları	56
4.1.10. B3 grubu sonuçları	57
4.1.11. D3 grubu sonuçları	57
4.2. Gruplar Arasında Karşılaştırmalı Sonuçlar	57
4.2.1. A aşısı ve D aşısı ile aşılananların karşılaştırılması	57
4.2.2. A, B ve C aşısı ile aşılananların karşılaştırılması	58
5. TARTIŞMA	61
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	67

7. KAYNAKLAR
ÖZGEÇMİŞ

69

80



ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>		<u>Sayfa</u>
3.1:	AA-ELISA Yönteminde Kullanılan ELISA Plaklarının Düzeni	46
3.2:	Standart Serumların IU/ml Olarak Değerleri	47



ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
2.1: Türkiye'de yıllara göre gözlenen kuduz olgusu	7
2.2: D.S.Ö. 1992 kuduz komitesinin temas sonrası sağaltım için önerdiği rehber	23
4.1: Hasta gruplarının özellikleri	49
4.2: Çalışmada kullanılan aşuların özellikleri	50
4.3: 30'uncu günde alınan serumların anti-kuduz nötralizan antikor seviyeleri toplu sonuçları.	51
4.4: 90'ıncı günde alınan serumların anti-kuduz nötralizan antikor seviyeleri toplu sonuçları.	52
4.5: 1 yıl sonra toplanan serumların anti-kuduz nötralizan antikor seviyeleri toplu sonuçları.	53
4.6: Serum antikor seviyelerinin gruplara göre karşılaştırmalı değerlendirilmesi	59
4.7: HDCV içeren iki ayrı aşı (A ve D) ile aşılanarlardaki serum seviyelerini karşılaştırmalı değerlendirilmesi	60
4.8: HDCV, PCECV ve PVRV içeren üç ayrı aşı (A, B ve C) ile aşılanarlardaki serum seviyelerini karşılaştırmalı değerlendirilmesi	60

KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklamalar</u>
AA-ELISA	Aşı Antijenli ELISA
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ACIP	The Immunization Practices Advisory Committee = ABD İmmünizasyon Uygulama Öneri Komitesi
Ad RG-I	Recombinant Human Adenovirus Vaccine = Rekombinant İnsan Adenovirus Aşısı
ADH	Anti Diüretik Hormon
ALVAC RG	Canarypox Virus Rekombinant Aşısı =Canarypox Virus Recombinant Vaccine
BHK 21	Baby Hamster Kidney Cells = Yavru Hamster Böbrek Hücreleri
BOS	Beyin Omurilik Sıvısı
BSA	Bovine Serum Albumin = Sığır Serum Albümini
CER	Chick Embryo-Related Cells = Cıvıv Embriyon Hücreleri
DEAB	Diethanolamine Buffer
DEV	Duck Embryo Vaccine=Ördek Embriyon Aşısı
D.S.Ö	Dünya Sağlık Örgütü
EIA	Enzym Immun Assay
ELISA	Enzym Linked Immunosorbend Assay
ERIG	Equine Rabies Immunoglobulin = At Kuduz İmmünoglobulini
FAT	Fluorescent-Antibody Test = Floresan Antikor Testi
HDCV	Human Diploid Cell Vaccine=İnsan Diploid Hücre Kökenli Aşı
HRIG	Human Rabies Immunoglobulin = İnsan Kuduz İmmünoglobulini
İ.Ö.	Milattan Önce
İ.S.	Milattan Sonra
İ.D	İntradermal
İ.M	İntramüsküler

IU	International Unit = Internasyonel Ünite
ml	mililitre
mm	milimetre
µl	mikrolitre
MSS	Merkezi Sinir Sistemi
nm	nanometre
NA C1300	Murine Neuroblastoma Cells = Fare Nöroblastoma Hücreleri
NTV	Nerve Tissue Vaccine = Sinir Dokusu Aşısı
PBS	Phosphate Buffer Saline = Fosfat Tamponu
PCEC	Purified Chick Embryo Cell Vaccine = pürifiye Cıvciv Embriyon Hücre Aşısı
PCR	Polimerase Chain Reaction = Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PDEV	Purified Duck Embryo Vaccine= Pürifiye Ördek Embriyon Aşısı
PHKCV	Primary Hamster Kidney Cell Rabies Vaccine = Primer Hamster Böbrek Hücre Kuduz Aşısı
PVRV	Purified Vero Cell Rabies Vaccine = pürifiye Vero Hücre Kuduz Aşısı
RFFIT	Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test = Hızlı Floresan Fokus İnhibisyon Testi
RIG	Kuduz immünglobülin =Rabies Immunoglobulin
rpm	revolutions per minute = dakikada devir sayısı
RREID	Rapid Rabies Enzyme Immunodiagnosis = Hızlı Kuduz Enzim İmmun Tanı Yöntemi
RTCIT	Rabies Tissue Culture Infection Test = Kuduz Doku Kültürü İnfeksiyon Testi
RVA	Rabies Vaccine Adsorbed = Adsorbe Kuduz Aşısı (Rhesus Maymun Diploid Hücre Kültürü Aşısı)
SMBV	Suckling Mouse Brain Vaccine = Yenidoğan Fare Beyni Aşısı
T.C.	Türkiye Cumhuriyeti
yy	Yüzyıl

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Yaklaşık 60 ülkede coğrafik izolasyon, hayvan kontrol programları ve karantina uygulamaları sonucu kuduz olguları bildirilmemekle birlikte D.S.Ö.' nün tahminlerine göre her yıl 30.000'nin üzerinde insan kuduza yakalanıp ölmekte, yaklaşık 4 milyon insan da kuduz şüpheli temas sonucu tedavi görmektedir (1-3).

Dünya genelindeki kuduzdan ölümlerin %99'undan fazlası ülkemizin de içinde yer aldığı gelişmekte olan ülkelere görüldüğü, bu durumun kuduz kontrol programlarının başarılı bir şekilde uygulanamamasına bağlı olduğu düşünülmektedir (1). Sağlık Bakanlığı verilerine göre Türkiye'de her yıl ortalama 100.000 dolayında şüpheli ısırık olgusu kaydedilmekte ve her yıl artış göstermektedir. Bu kayıtlı şüpheli ısırık olgularının %97-98'i aşılanmaktadır. Komplikasyonları nedeniyle ucuz bir aşı olan Semple tipi kuduz aşısı ülkemizde de terkedilmiş ve çok daha pahalı olan doku kültürü aşılarının uygulamasına geçilmiştir. Bu aşılardan bütçemize maliyetinin yıllık yaklaşık 8.400.000 dolar olduğu tahmin edilmektedir ve ülkemiz için bu oldukça önemli bir ekonomik kayıptır. Bu yüzden, planlı ve akıllı organizasyonlarla, doğru ve gerçekçi olarak belirlenmiş hedeflere ulaşmak için, politik değişim ve yaklaşımlardan etkilenmeyecek, kararlı bir savaşım programının uygulanmasına gereksinim vardır (4-6).

Ülkemiz gereksiniminden yola çıkarak çalışmada, halen kullanılmakta olan insan diploid hücre kuduz aşısı (HDCV) ile pürifiye tavuk embriyon hücre kültürü aşısı (PCEC) ve pürifiye Vero hücre kuduz aşısı (PVRV) gibi ikinci jenerasyon doku kültürü kuduz aşılarının immünojenite (antijenik etki) ve maliyet açılarından karşılaştırılarak ülkemiz şartları için her yönden en avantajlı olan kuduz aşısının saptanmasını ve böylece ülkemizde kuduz profilaksisinde standardizasyona katkıda bulunmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kuduzun Tarihçesi:

Kuduz, insanların en eski ve en korkulan infeksiyonlarından biridir. "Kuduz-rabies" kelimesi Sanskritçe'de "vahşet yapmak" anlamına gelen "rabbahs" kelimesinden gelmektedir. Hastalıktan ilk olarak İ.Ö.23.yy'da Babilon'un Mozaik öncesi Eşmuna yasalarında bahsedilmiştir (2, 7). Eski Mısır, Yunan ve Roma dönemlerinde hastalığın köpeklere özgü bir delilik ve doğa üstü güçlerle ilişkili olduğu düşünülmüştür. O devirlerde yazılmış yapıtlarda köpek kuduzundan bahsedildiği halde insanlarda da görüldüğüne dair bir bilgiye rastlanmamıştır. İlk defa Tselsius yapıtlarında insanlardaki kuduzdan bahsedilmiştir. Hastalık İ.Ö. 322 yılında Aristo tarafından tarif edilmiştir. İ.S. 1.yy'da Cornelius Celsus "su korkusu" anlamına gelen "hidrofobi" terimini bulmuş ve insan kuduz vakasını tarif etmiştir. Celsus hidrofobinin hayvanlardaki kuduzla ilişkisini tanımlamış ve riskli hayvan ısırıklarında koruyucu bir önlem olarak yaranın kızgın demir ile dağlanması önermiştir. İ.S. 200 yıllarında Galen ise yara bölgesinin cerrahi rezeksiyonunun gerektiğini bildirmiştir. 1584 yılında Girolamo Fracastoro bugün bildiğimiz anlamda kuduz hastalığının gerçek özelliklerini "Tedavisi olmayan yara" olarak anlatmıştır (2, 7-9).

18.yy'dan önce kuduz vahşi hayvanların hastalığı olarak düşünülmüş ve köpeklere pek önem verilmemiştir. Kentlerde insanlarla birlikte yaşayan evcil köpeklerde ilk kuduz salgını bu yüzyılın başlarında İtalya'da görülmüştür (7)

1804'te Zinke tavşanları ve tavukları kuduz bir köpeğin salyası ile enfekte etmiştir. Gruner ve Salm-Reifferscheidt 1813'te kuduz köpeğin salyasından normal bir köpeğe inokulasyonla kuduzun bulaştığını rapor etmiştir. Bu deneyler hastalığın infeksiyöz olduğunu göstermiş, başıboş köpeklerin yok edilmesi ve ev köpeklerinin karantinaya alınması ile kuduzun yok edilebileceği görüşü ortaya çıkmıştır (7, 8, 10).

1879'da Viktor Galtier kuduzu seri pasajlarla tavşandan tavşana bulaştırmış, kuduzun incelenmesinde tavşanın uygun bir deney hayvanı olduğunu göstermiştir. Bu çalışmalardan faydalanarak Pasteur ve arkadaşları kuduzla ilgili modern anlamdaki çalışmaları başlatmışlardır (7, 9, 10).

Louis Pasteur ve arkadaşları 1882 yılında hastalık etkeninin özellikle santral sinir sisteminde bulunduğunu, infekte beyin süspansiyonunun tavşanlara intraserebral inokülasyonunda aynı hastalığın oluştuğunu ortaya koymuşlardır. Etkenin mikroskopta görülmeşi ve besiyerlerinde üretilmeşi nedeniyle dolayı "virüs" adı verilmiştir. Pasteur seri pasajlardan sonra oda ısısında kurutarak atenüe edilebilen etkeni içeren beyin materyalinden aşı hazırlanabileceğini keşfetmiş ve bu aşı ile köpeklerin bağışıklanabileceğini göstermiştir. Pasteur aşısını 1885'te ilk defa insanda kullanmış ve başarılı olmuştur (8, 10). 1903'te Remlinger etkenin Berkefeld süzgecinden geçtiğini bildirmiş ve aynı yıl Negri kuduz hayvanların nöronlarında intrastoplazmik inklüzyon cisimciklerinin varlığını göstermiş, böylece kuduzun mikroskobik tanısında çok önemli bir adım atılmıştır (8-11).

Kuduz araştırmaları II. Dünya savaşıdan sonra hız kazanmış, tanı ve tedavi ile ilgili önemli çalışmalar yapılmıştır. Bunlardan en göze çarpanlarından ilki Koprowski ve arkadaşlarının 1948'de rabies virus flury suşunun gelişmekte olan civciv embriyosuna adaptasyonudur ve bu çalışma atenüe kuduz aşılarının geliştirilmesinde basamak olmuştur. Bu dönemdeki ikinci büyük çalışma 1958'de Goldwasser ve Kissling tarafından kuduz tanısında kullanılmak üzere floresan antikor uygulamasının geliştirilmesi olmuştur. Bu çalışma sadece tanıyı kolaylaştırmakla kalmamış, doku ve hücre kültüründe virüsün üretilme çalışmalarına yeni bir pencere açmıştır. Virüs ilk defa 1962'de Almeida ve Matsumoto tarafından elektron mikroskopunda görülmüştür. 1964'te ise Wiktar ve arkadaşları hücre kültüründe kuduz virüsü ile ilgili önemli bilgiler elde etmişler ve bu çalışmalar doku kültürü aşılarının gelişiminde, virüsün yapısı, replikasyonu ve kompozisyonunun daha iyi anlaşılabilmesine temel oluşturmuştur (7, 11, 12).

Pasteur zamanından bu yana kuduz virüsünün iki temel tipi tanımlanmıştır. Biri doğada bulunan hastalık etkeni "Sokak virüsü" (street virus) olarak adlandırılmış, diğeri pasajlarla elde edilmiş hayvanlarda daha kısa sürede hastalık oluşturmuş ve "Sabit virüs" (fix virus) adını almıştır (11).

Kuduz, günümüzde gelişmiş ülkelerde evcil hayvanların aşılınması, sahipsiz hayvanların sınıflandırılması ve vahşi yaşam kuduzunun eradikasyonuna yönelik çalışmalar sonucunda çok nadir görülmekle birlikte gelişmekte olan birçok ülkede olduğu gibi ülkemizde de halen güncelliğini ve önemini korumaktadır (13).

2.2. Epidemiyoloji:

Kuduz Avustralya ve Antartika dışında tüm dünyada yaygın olarak görülen bir zoonoz olup, infeksiyon insan gibi vektör olmayan türleri kazara tutar. İnsan kuduzunun epidemiyolojisi, hayvan kuduzunun epizootolojisi ile yakın paralellik gösterir. Hastalık iki farklı epidemiyolojik formda bulunur. Bunlardan birincisi genellikle kedi, köpek gibi aşılınmamış evcil hayvanlarla ilişkili olan evcil kuduz (kentsel) şekli; ikincisi tilki, kurt, çakal, kokarca, yarası gibi hayvanlarla ilişkili olan vahşi (wild life) ya da silvatik kuduz şeklidir (3, 12-16). Evcil hayvan kuduzunun yeterli oranda kontrol altına alınmadığı bölgelerde insan ve hayvanlarda bildirilen kuduz olgularının %90'ından çoğunda köpekler sorumlu iken, bunun aksine günümüzde ABD, Kanada ve birçok Batı Avrupa ülkeleri gibi evcil hayvan kuduzunun kontrol altına alınmış olduğu bölgelerde rapor edilen hayvan kuduzu olgularının %5'inden daha azında köpeklerin sorumlu olduğu bildirilmektedir (2). Başarılı köpek aşılama ve başıboş hayvan kontrol programları ile ABD'de 1940'lı yıllarda yılda ortalama 40 olan insan kuduz olgu sayısı, 1960 ve 1970'li yıllar arasında yılda ortalama 2 olguya düşmüştür (17).

Çoğu vahşi memeli, kuduz ile infekte olabilir, fakat aralarında kuduz duyarlılıkları bakımından farklılıklar vardır. Bunlardan kuduz hastalığına ileri

derecede duyarlı olanlar; tilkiler, kurtlar, koyotlar (küçük, Kuzey Amerika tilkisi) ve çakallardır. Orta derecede duyarlı olanlar; kokarcalar, rakunlar, yarasalar, vaşaklar, mongoslar (gelincik) ve maymunlardır. Opposum (keseli sıçan) gibi bazıları oldukça dirençlidir. Mongos ve çakal Afrika'da; tilki Avrupa, Kanada, Arktik ve Kuzey Amerika'da; kurt Batı Asya'da; vampir yarasa Latin Amerika'da; kokarca, rakun ve böcek yiyen yarasa ABD'de kuduzun başlıca vahşi yaşam vektörleridir (2). Kuduzun tüm bu hayvan türleri içinde, yeterli oranda nüfus yoğunluğu olduğunda, hayvandan hayvana ısırık yolu ile bulaşan endemik bir hastalık olduğu iddia edilmektedir. Fare, sincap gibi küçük kemirgenler, kuşlar ve sürüngenler nadiren doğal rezervuar ya da insan için vektör olarak rol oynadıkları bildirilmektedir (2). ABD'de kemiricilerin kuduz ile infekte olduğu hemen hemen hiç görülmemiş ve bilindiği kadarıyla insanlarda kuduzla neden olmamışlardır (18).

Hastalığın insanlara bulaşmasındaki en önemli kaynak, yakın çevresindeki hayvanlardır. Türkiye gibi gelişmekte olan birçok ülkede insan kuduzu olgularının %90'dan fazlasından köpekler sorumlu tutulmaktadır (13). Özellikle Afrika, Asya ve Latin Amerika'da her yıl 50.000-60.000 köpek kuduzu bildirilmektedir (19). Dünya genelinde her 100.000 kişide yılda 200-800 arasında köpek ısırığı bildirilmektedir (2). 80'den fazla ülkede kuduz, en tehlikeli rezervuarı olan köpeklerde hala yaygındır, 30.000'den fazla insan, kuduz köpeklerle ısırılma sonucu ölmektedir. Köpek kuduzunun gelişmekte olan ülkelerde sınırlı olmasında, toplum-köpek ilişkisinin yeterince anlaşılmamasının ve toplumun, gelişmiş birçok ülkede başarı sağlamış kuduz kontrol yöntemlerini benimsememesinin rolü büyüktür (1). Buna karşın, toplum yapısına uygun olarak geliştirilen bazı köpek bağışıklama programları ile Kuzey Afrika, Latin Amerika ve Asya'nın bazı bölümlerinde köpek topluluklarının %75'ine kadar ulaşılmıştır. Bu oranın kuduz bulaş döngüsünü kırmak için genellikle yeterli olduğu bilinmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde kuduz kontrolünde en önemli yöntem kitle köpek aşılama kampanyalarıdır, fakat aşırı bürokrasi ve aşıların yüksek maliyeti bu uygulamayı baltalamaktadır. Tek başına köpek toplama

yönteminin köpek nüfus yoğunluğunu azaltıcı ve kuduz yayılımını önleyici bir etkisi olduğuna ilişkin kanıt yoktur (1, 7).

Vahşi yaşam kuduzunu kontrol altına almaya ve sonuçta ortadan kaldırmaya yönelik programlar konakların nüfus düzeylerini düşürmeyi amaçlamaktadır. Son zamanlarda geliştirilen oral kuduz aşılama teknikleri giderek daha geniş bir biçimde kullanılmakta ve bunların farklı koşullar altında etkili oldukları gösterilmektedir. Yenilebilir aşilar yoluyla uygulanan oral aşılama girişimleri Avrupa'nın bir çok bölgesinde başarılı olmuş olmasına rağmen tilki kuduzu Avrupa ve Kuzey Amerika'da yıllardır endemiktir (1, 7).

Vampir yarasalarla sığır kuduzu arasındaki ilişki ilk kez 1918 yılında gösterilmiştir. Kuduz, vampir yarasalarda Meksika'dan Arjantin'e endemik olarak bulunmakta ve vampir yarasalar sığırlara kuduz bulaştırarak tarım endüstrisi için problemlere neden olmaktadır. Ayrıca; vampir yarasalar, çok sayıda insana kuduzun bulaşmasına ve ölümüne neden olmuştur. Böcek yiyen yarasalarda ise kuduz ilk kez 1953 yılında ABD'nde bildirilmiş, daha sonra Kuzey Amerika ve Avrupa'daki bazı türlerde kuduz saptanmıştır. Böcek yiyen yarasalardan insanlara kuduz bulaşı çok az olup; ABD ve Kanada'da 13 olgu, Avrupa'da ise 2 olgu bildirilmiştir (1, 7, 12).

Isırık olmaksızın temasla gelişen kuduz olguları çok nadirdir. Isırık olmaksızın en riskli temaslar; yüksek oranda aerosolize kuduz virüsünün bulunduğu laboratuvar ve mağaralarda veya infekte doku ile yapılan çalışmalardır. Deneysel araştırmalarda kuduz virüsünün konjunktivaya, müköz zarlara ve sıyrıklara teması sonucunda hastalığın geliştiği gösterilmiştir. Literatürlerde kornea transplantasyonu ile kuduz aktarıldığı olgular vardır. Tüm bu istisnalara karşın, kuduz neredeyse her zaman kuduz hayvan ısırığı ile bulaşmaktadır. Hayvanlarda uygulanan atenüe kuduz aşılama bağıli kuduz geliştiği bildirilirken, insanlarda bu aşılama sırasında iğnenin batması veya aşının damlamasıyla gelişen insan kuduzu olguları bildirilmemiştir. Kornea transplantasyonu ile bulaş dışında, teorik olarak mümkün olmasına rağmen, ısırıkla veya ısıriksiz temasla insandan insana kuduz bulaşı bildirilmemiştir (15, 20-24).

D.S.Ö. dünya genelinde kuduz nedeni ile ölüm oranını 1994 yılında yaklaşık 5000 olarak rapor etmesine rağmen D.S.Ö.yıllık ölüm oranının gerçekte 50.000 civarında olduğunu tahmin etmektedir. Sadece Hindistanda bu oranın 25.000'den fazla olduğu düşünülmektedir (her 100.000 nüfusa 3 ölüm). ABD'de ise yılda 1-2 ölüm görülmektedir. Her yıl yaklaşık 4 milyon insana kuduz profilaksisi uygulanmaktadır (1-3, 14, 25, 26). İngiltere, Japonya, Finlandiya, İsveç, Norveç, Portekiz, Karaib Adaları, Avustralya dahil, yaklaşık 60 ülkede coğrafik izolasyon, hayvan kontrol programları ve karantina uygulamaları sonucunda kuduz olgusu bildirilmemektedir (2, 3).

T.C. Sağlık Bakanlığı verilerine göre Türkiye'de yıllara göre gözlenen kuduz olgusu yani ölüm sayıları çizelge 2.1'de izlenmektedir. Bu verilere göre Türkiye'de kuduz olgularındaki azalma dikkati çekmektedir. 1970-1979 yılları arasındaki 10 yıllık dönemde 382, 1980-1989 yıllarında 188 ve 1990-1997 yıllarında sadece 32 olgu görülmüştür. 1994, 95 ve 96 yıllarında yıllık morbidite hızı yüz binde 0.002'ye (yılda 1 olgu) kadar düşmüştür (5, 13, 26-28).

Çizelge 4.1: Türkiye'de yıllara göre gözlenen kuduz olgusu

yıllar	1970-79	1980	1981	1982	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997
Olgu	382	30	31	29	25	12	18	21	6	6	10	7	9	5	4	1	1	1	5

Diğer gelişmekte olan ülkelerde olduğu gibi Türkiye'de de en çok köpek ısırması sonucu kuduz gelişmektedir. 1980-1996 yılları arasındaki dönemde görülen 216 olgunun 171'ü köpek, 1'i kedi, 1'i eşek, 4'ü kurt, ısırması sonucu meydana gelmiş, 39'unda kaynak belirlenememiştir. Bu verilere göre; Avrupa'nın diğer bir çok ülkesinin aksine, kaynağı belirlenmiş kuduz olgularının %97.7'sinin evcil hayvan ısırığı ile bulaştığı görülmektedir (Avrupa'da evcil hayvan kuduzu %28 dolayındadır). 1997 yılında bu tablo değişme göstermeye başlamış, 1997 yılındaki 5 olgudan 2'si vahşi kurt, 1'i vahşi tilki, 2'si köpek ısırığı sonucu gelişmiştir (5, 13, 27).

Sağlık Bakanlığı verilerine göre Türkiye'de yılda ortalama 100.000 dolayında şüpheli ısırık olgusu kaydedilmekte ve her yıl artış göstermektedir. Bu artış halkımızın bu konuda bilinçlenmesine ve aşılarla olan güveninin artmasına bağlanmaktadır. Şüpheli ısırık olgularında olaya neden olan hayvanlardan sokak köpekleri %75 oranıyla ilk sırada yer alırken, kediler de %13 ile onları takip etmektedir. Bu kayıtlı şüpheli ısırık olgularının %97-98'i aşılanmakta olup aşuların bütçemize maliyetinin yıllık yaklaşık 8.400.000 dolar olduğu tahmin edilmektedir (5, 6, 28).

Ülkemizde görülen hayvan kuduzu sayısı son 10 yılda hızla düşüş göstermektedir. 1985 yılında 1.284 olgu bildirilmiş iken 1995'te bu sayı 168'e inmiş olup bunlardan sadece 1 tanesinin vahşi hayvan, diğerlerinin ise evcil hayvan kuduzu (143 köpek, 4 kedi, 19 sığır, 1 diğer) olduğu belirtilmektedir (26, 29). İstanbul Pendik Veteriner Araştırma Enstitüsünde 20 yıllık sürede incelenen yüzlerce ev faresinin hiç birinde kuduz saptanmadığı, bu nedenle de Türkiye için ev faresi ısırıklarında aşılamaı kaldırmanın uygun olacağı bildirilmiştir (30).

2.3. Etkenin Özellikleri:

2.3.1. Sınıflandırma:

Kuduz virüsü (Rabies virus); vertebrali ve vertebrasız hayvanlar ile bitkileri infekte eden, kesinleşmiş veya kesinleşmemiş 200'den fazla üyesi bulunan Rhabdoviridae ailesi içinde sınıflandırılır. Ailenin bitkileri infekte eden üyeleri basil şeklinde olup hayvanları ve insanları infekte edenler ise mermi şeklindedirler ve Lyssavirus (yunanca Lyssas=çılgın) ve Vesiculovirus olarak iki cins içinde bulunurlar. Klasik rabies virusun da içinde olduğu Lyssavirus cinsinin 80'den fazla üyesi yaklaşık 25 farklı serotipe toplanmışlardır. Kuduz virüsü serotip-1 içinde yer alır. Diğerleri artropod ve memelilerde bulunur, insanları da

çok seyrek olarak infekte edebilen üç kuduz benzeri virüs bilinmektedir; Mokola, Duvenhage ve Avrupa yarasa lyssavirusları (serotip 3-6). (2, 3, 13).

Vesiculovirus cinsi, genellikle hayvanları infekte eder, bunlardan veziküler stomatit virüsü seyrek olarak insanları infekte eder ve ölümcül tablo oluşturmaz, genellikle belirtisiz seyreder, nadiren de grip benzeri bir tabloya yol açar (2).

2.3.2. Morfoloji ve antijenik yapı:

Kuduz virüsü 75 nm çapında ve ortalama 180 nm boyunda, silindirik, bir ucu düz, diğer ucu yuvarlak, mermi şeklinde bir virüstür. İki fonksiyonel-yapısal komponenti vardır; Biri ribo-nükleoprotein kor (nucleocapsid), diğeri bunun çevresinde lipoprotein bir zarf (envelop). İki katmanlı lipoprotein zarf, 7-10 nm kalınlığında, primer olarak konak hücre zarlarından orjin alan bir kılıftır. Aksiyel bir çöküntünün olduğu düz ucu haricinde, virionun yüzeyi düzenli aralıklarla yerleşmiş, yaklaşık 9 nm uzunluğunda, glikoprotein yapısında, topuzumsu-çivi benzeri çıkıntılarla kaplıdır. Bu glikoprotein yüzey çıkıntıları konak hücreye virüsün tutunmasında görev alır. Nükleokapsid; zarfa çevrili, infeksiyöz, 30-35 kıvrımdan oluşan, helikal, 50 nm eninde ve 165 nm boyunda bir yapı olup, tek bir RNA molekülü N proteini (nükleoprotein) ile nonstrüktürel, transkriptazla ilişkili fosfoprotein (NS) ve viryonla ilişkili transkriptaz- Large protein olmak üzere üç proteinin birleşmesinden ibarettir. Viral nükleik asit $4,6 \times 10^6$ moleküler ağırlıkta, tek sarmallı, lineer, segmentsiz, negatif polariteli, infeksiyöz olmayan bir RNA molekülüdür (2, 3, 12, 13, 19, 31, 32).

Hücreye girdikten sonra RNA genomu virion içindeki RNA-bağımlı RNA polimeraz aracılığıyla transkripsiyona uğrar. Bu genom 5 proteini kodlar. Başka bir deyişle virüs; ikisi zarf, üçü nükleokapsid yapısında olmak üzere 5 protein içerir: glikoprotein (G), nükleoprotein (N), viral polimeraz (transkriptaz) (L), fosfoprotein (NS), matriks protein (M) (1, 2).

G proteini: virüs dış yüzeyindeki çıkıntılarının esas yapısını oluşturan glikoproteininin molekül ağırlığı 67.000'dir. Tanı ve tedavide önemli rol oynar. Nötralizan antikorların uyarılmasında ve bağlanmasından sorumlu güçlü, tipe spesifik bir viral antijendir. Ayrıca virüse duyarlı T helper ve sitotoksik T hücreler için hedef oluşturur. Sadece, G proteini içermekte olan aşilar kuduz infeksiyonununa karşı koruyucu immüniteyi sağlayabilirler ve aşiların etkinliğini ölçmek için bu proteine karşı oluşan antikorlar araştırılır.(1, 2, 12, 19, 31, 33, 34)

N proteini: 56.000 molekül ağırlığında olan N proteini, tüm lyssavirusların ve vesiculovirusların gruba spesifik ortak antijenini oluşturur. N proteininin T helper hücreleri uyararak, farklı kuduz ve kuduz benzeri virüsler arasında çapraz reaksiyona neden olan en önemli antijen olduğu gösterilmiştir. Ayrıca değişik virüs suşlarına karşı koruyucu immünite sağlayabileceği bildirilmektedir (1, 2, 12, 19).

NS proteini: 38.000 molekül ağırlığında, yapısal olmayan (nonstructural), nükleokapsid ile ilişkili bir fosfoproteindir (1, 13, 19).

L proteini: 190.000 molekül ağırlığında, büyük (Large) bir transkriptaz proteindir (1,19).

M proteini: Molekül ağırlığı 26.000 olup, lipoprotein yapısındaki viral zarfı oluşturmak için lipitlerle birleşmiş olan matriks proteindir (3, 16, 33).

2.3.3. Direnç:

Kuduz virüsü pH 3 ile 11 arasında stabildir. Nötral pH'da %0.1'lik bovine serum albumin ile süspansiyonunda inaktivasyon yarı ömrü 4 °C'de 24 saat, 40 °C'de 4 saat, 54 °C'de 30 dakika, 60 °C'de 35 saniyedir. -70 °C'de veya liyofilize edilip 0-4 °C'de tutulursa yıllarca canlı kalır. Virüs kuruluk, ultraviyole, X ışını, güneş ışığı, tripsin, β -propiolacton, eter, ve deterjanlarla hızla inaktive olur (2). Ayrıca formalin, fenol, dördü amonyum bileşikler, kuvvetli asitler, %70'lik etanol, civabiklorid veya dezenfektanlar ile infektivitesini kaybeder (11, 13).

2.4. Patogenez ve Patoloji:

Kuduz, genellikle kuduz bir hayvanın ısırmasıyla deriden, sıklıkla kas içine virüs içeren salyanın inoküle olması ile bulaşır. Nadir olarak ; yaralara infekte salyanın veya mağaralarda yarasaların idranı gibi diğer infekte sekresyonların teması, infekte aerosollerin inhalasyonu veya organ transplantasyonu ile de bulaşabilmektedir. Viral replikasyon ilk defa lokal olarak çizgili kas ve mukoz membranlarda görülür veya direkt olarak sinir hücresine girebilir. Virüs, G proteini aracılığı ile bazı hücre reseptörlerine yapışır. Bunlardan önemli bir tanesi nöromusküler birleşmedeki nikotik asetilkolin reseptörleridir. Nöron içine giren virüs tamamlanmamış bir formda, belki de çıplak nükleokapsid şeklinde, sentripetal yönde, aksonoplasmik transport akıntısıyla, günde 8-20 mm ilerleyerek merkezi sinir sistemine doğru taşınır. Ganglionlarda sinaptik kavşaklarda hücreden hücreye yayılır ve sonunda bol miktarda intra nöronal replikasyonun görüldüğü beyine ulaşır. Limbik sistemin infeksiyonu agresif davranışlara neden olur. MSS'de üreyen virüs periferik ve otonomik sinirler yolu ile sentrifugal yayılımla tükürük bezleri, iskelet ve kalp kası, deri, akciğer, böbrek, adrenal ve lakrimal bezlere yayılır. Nöronlardakinin aksine tükürük bezlerinin asiner hücrelerinde bol miktarda extrasellüler virüs üretilir. Kanda ve kan hücrelerinde hiçbir zaman tespit edilememiş olmasına rağmen, virüs gözyaşı ve respiratuar traktus sekresyonu, bazen de idrar ve süte çıkabilir (3, 7, 13, 32, 33, 35, 36).

Patolojik olarak; kuduz spinal kordun ve beynin nöronal dejenerasyonu ile giden bir ensefalittir (31). Kuduz ensefalitindeki bulgular serebral konjesyon ve peteşiyal hemorajilerdir. Fakat ileri derecede bir serebral ödem yoktur. Lenfositik bir perivenöz infiltrasyon yaygındır. %70-80 vakada eozinofilik sitoplazmik inklüzyonlar (negri cisimcikleri) bulunur. Negri cisimcikleri tutulan nöronların içindeki karakteristik ve tek patognomonik bulgudur. Bu sitoplazmik inklüzyonlar keskin sınırlı, sferik veya oval, eozinofilik, 2-10µm boyutlarında,

içlerinde bazofilik granüller bulunan ve tek bir hücrede birkaç tane bulunabilen cisimciklerdir. İnklüzyon cisimleri sıklıkla hipokampusun ammon boynuzunda ve serebellum pürkinje hücrelerinde, daha az sıklıkla da beynin diğer bölgelerinde ve spinal kordun arka boynuzunda bulunabilir. Eozinofilik cisimcikler viral nükleoprotein matriks ve gelişmekte olan viriondan ibarettir. İçindeki bazofilik granüller konak hücre organellerinin parçalarını taşır. İmmünofloresan çalışmalarla negri cisimciği içindeki spesifik viral antijenler gösterilebilir (3, 13, 31).

Nörofaji, mikrogliyal reaksiyon, demiyelinizasyon odakları, ve perinöral infiltrasyonlar (Babes nodülleri) görülebilir. Beyin sapı ve spinal kord özellikle etkilenir, fakat değişiklikler sıklıkla yaygındır. Paralitik hastalıkta spinal kord ileri derecede etkilenir. Meningeal reaksiyon çocuklarda görülebilir. Histopatolojik değişikliklerin boyutu, nöronal yapıların tam harabiyeti ve periferel sinirlerin aksonal dejenerasyonundan, herhangi bir inflamasyon veya dejenerasyonun yokluğuna kadar değişebilir (3).

2.5. Klinik Özellikler:

Kuduz hastalığı inkübasyon dönemi, prodrom dönemi, akut nörolojik dönem ve koma dönemi olarak dört dönemde incelenebilir (37).

2.5.1. İnkübasyon dönemi:

İnokulasyon ile semptomların başlaması arasındaki dönemdir. Bu dönem boyunca kişiler, lokal yara iyileşmesi ile ilgili şikayetler dışında iyidirler. Literatürde rapor edilmiş en kısa inkübasyon dönemi 4 gün, en uzununu 19 yıldır. Aşırı uzun inkübasyon dönemleri temasın gözlenemediği bazı olguları açıklayabilir. Olguların %95'inde inkübasyon dönemi 1 yılın altında ve genellikle (%60) 20-90 gün arasındadır (2, 3). Bu süre; viral inokulum miktarına, etkenin

virülansına, yaranın şiddetine ve yaradan beyne nöral yolun uzunluğuna bağlıdır (2, 3, 31, 32, 37). Genelde; başta, yüzde veya başa yakın olan ısırıklarda inkübasyon dönemi kısadır, fakat bu ilişki her zaman doğru değildir (3, 31). Bu dönem sıklıkla çocuklarda erişkinlere göre daha kısadır (12, 37).

2.5.2. Prodrom dönemi:

Virüsün MSS'ne girmesi ile başlayan 2-10 gün kadar süren nonspesifik belirtilerin görüldüğü dönemdir. Halsizlik, bitkinlik, myalji, baş ağrısı, ateş, üşüme-titreme, anoreksi, boğaz ağrısı, karın ağrısı, bulantı-kusma, fotofobi ve ishal bu dönemde görülebilen nonspesifik belirtilerdir. Bu dönemde korku, endişe, ajitasyon, irritabilite, sinirlilik, uykusuzluk, psikiyatrik bozukluklar gibi nörolojik tutulumu düşündüren bulgular da gözlenebilir. Yaklaşık olguların %50'sinde eski ısırık yerinde ağrı, parestezi, kaşıntı ve anormal duyuvar spesifik ilk bulgu olabilir (2, 3, 16, 31, 36-38).

2.5.3. Akut nörolojik dönem:

Prodrom döneminin ardından gelen, MSS'nin tutuluşunun objektif belirtilerinin görüldüğü, 2-7 gün kadar süren dönemdir. Bu dönemde hastalık furious (kızgın) veya paralitik olmak üzere iki formda görülür (2, 3, 13).

Furious (kızgın) kuduz: Kuduzun en yaygın olan bu formunda asıl tutulan yer beyindir (limbik sistem, beyin sapı ve daha üst merkezler). İlk nörolojik belirtiler; hiperaktivite, disoryantasyon, halusinasyonlar ve garip davranışlardır. Karakteristik olarak; 1-5 dakika süren, ajitasyon, saldırganlık, kaçma, ısırma ve diğer davranış bozuklukları ile giden hiperaktivite dönemi ile sakinlik dönemleri birbirini izler. Hipertermi, taşikardi, hipertansiyon ve hipersalivasyon gibi otonomik instabilite belirtileri göze çarpar. Hiperaktif nöbetler kendiliğinden veya dokunsal, işitsel ve görsel uyarılarla ortaya çıkabilir. Bu nöbetler arasında

hastalar korku ve panik halinde olmalarına rağmen, koopere ve oryantedirler. Olguların yarısından fazlasında bu dönemde bir şey içilmeye çalışıldığında farinks, larinks, ve diyaframın şiddetli spazmı olur ki, bu tıkanma, boğulma ve korku hissi uyandırır. Bu bulguya hidrofobi (su korkusu) denir. Sonraları bu spazmlar; suyu görmekle, duymakla hatta düşünmekle bile, bazen hastanın yüzüne hava üflemeyle (aerofobi), parlak ışıkla, yüksek sesle ortaya çıkabilir. Şiddetli spazmlar bazen konvülsiyon ve opistotonus ile birlikte genel bir ekstansiyona neden olabilir. Bu dönemde görülen diğer belirtiler; kardiyak aritmi, III. VII. ve IX. kranial sinir lezyonları, kas fasikülasyonları, genel sempatik aşırı uyarımına bağlı gözyaşı, ter ve tükürük salgılanmasında artış, pupiller dilatasyon, nadiren libido artışı, priapizm ve spontan orgazmdir. Hastaların nöbetler sırasında kardiyak arrest veya respiratuvar paralizisi nedeniyle kaybedilir veya koma dönemine girerler. Ölümden önce progressif paralitik semptomlar görülebilir (2, 3, 13, 37).

Paralitik (sakin, dumb) kuduz: Yaklaşık hastaların %20'sinde paralizisi baskındır. Kuduzun bu formunda hiperaktivite ve furious kuduzdaki belirtilerin çoğu yoktur. Prodromal belirtileri parestezi takip eder. Paralizisi yaygın ve simetrik olabileceği gibi, daha belirgin olarak ısırılma bölgesinde lokalizedir, ayrıca Gullain-Barre sendromundaki gibi assendan bir paralizisi olabilir. Hastalarda minimal ajitasyon ve konfüzyon görülebilirse de çoğu kez bilinç açıktır. Hastalık ilerledikçe mental durum göreceli olarak bozulur. Konfüzyon, oryantasyon bozukluğu, stupor ve sonuçta koma gelişir (2, 3, 13, 37). Paralitik kuduzla belli türlerle temasın (yarasa gibi) neden olduğu inancı günümüzde tartışmalıdır (2). Ayrıca attenüe virüslerle olan infeksiyonların veya temas sonrası aşılama rağmen ortaya çıkan infeksiyonların daha sıklıkla paralitik formda olduğunu bildiren yayınlar vardır (3).

2.5.4. Koma dönemi:

Belirtilerin ortaya çıkmasından 4-10 gün sonra koma gelişir, saatler veya aylarca sürebilir. Destek sağaltımı uygulanmayan hastalarda koma geliştiğinde kısa süre içinde solunum durması ile hasta ölür. ABD'nde yoğun bakım desteği görmeyen hastalarda hastalığın ortalama süresi 7 gün, yoğun bakım desteğinde ise ortalama 25 gün olarak bildirilmiştir. Bu dönemde fatal veya potansiyel fatal komplikasyonlar ortaya çıkar ve ölüm genellikle bu komplikasyonlar sonucundadır (15, 17).

2.6. Komplikasyonlar:

Kuduzda, çoğu koma döneminde görülen çok sayıda komplikasyon bildirilmiştir. Komplikasyonların çoğu nörolojik komplikasyonlar olmakla birlikte respiratuvar komplikasyonlar da tüm vakalarda görülür. Hipotalamik tutulum; uygunsuz ADH sekresyonu ve diabetes insipidusa neden olur. Otonomik fonksiyon bozukluğu; hipertansiyon, hipotansiyon, kardiyak aritmi, konjessif kap yetmezliği veya hipotermiye neden olabilir. Arteriyel veya venöz tromboz, vena cava superior trombozu, terminal dönemlerde myokardit görülebilen diğer kardiyovasküler sorunlardır. Respiratuvar komplikasyon olarak; hiperventilasyon ve respiratuvar alkaloz, prodrom ve erken nörolojik dönemde sıklıkla görülür, fakat daha sonraları gelişen hipoventilasyon ve solunum depresyonu sonucu progressif hipoksi ortaya çıkar. Solunum kaslarında parali ve sekonder bakteriyel pulmoner infeksiyonlar sonucunda, atelektazi, apne, pnömoni, pnömotoraks gelişebilir. Beyin ödemi ve kafa içi basınç artımı görülür. Fokal veya generalize nöbetler siktir. Stres ülserlerine bağlı gastro intestinal kanamalar görülür, paralitik ileus gelişebilir. Ayrıca mesane paralizi, üriner sistemin sekonder bakteriyel infeksiyonu, akut renal yetmezlik görülebilen üriner sistem komplikasyonlarıdır (2, 3, 39-41).

2.7. Tanı:

Günümüzde klinik belirtiler başlamadan kuduz tanısının konulabilmesini sağlayacak bir test yoktur. Dünyanın birçok yerinde hastalığın tanısı halen klinik belirti ve semptomlarla yapılmaktadır. Rutin laboratuvar testleri hastalığın gidişi sırasında çok az değerlidir. Hastaların %60'ında BOS'ta lökosit sayısında bir artış (ortalama $70/mm^3$) görülmekte olup çoğunlukla mononükleer hücrelerdir. BOS protein ve glikoz değerleri ise genellikle normaldir (1, 2).

Kuduzun tanısını koyabilmek için spesifik tanı testlerine ihtiyaç vardır. Fakat virüs belki de ısırık bölgesindeki nöronlar veya myozitler içinde immünolojik olarak korunmakta ve antikor uyarımı olmamaktadır. Bu nedenle serum ve BOS'ta hastalığın ilerlemiş dönemlerine kadar antikor saptanamamaktadır. Hastalığın spesifik tanısında birbirini destekleyen bir dizi test önerilmektedir. Bunlar; histopatolojik inceleme, virüsün üretilmesi, serolojik testler ve virüs antijenlerinin araştırılmasıdır (2, 3, 42).

2.7.1. Histopatolojik inceleme:

İnsan kuduz olgularının beyin dokuları histolojik olarak incelendiğinde tipik olarak gri cevherde perivasküler inflamasyon, değişik düzeylerde nöronal dejenerasyon ve çoğu olguda karakteristik sitoplasmik inklüzyon cisimleri (Negri cisimleri) görülür. Özellikle aşı uygulanmış veya birkaç hafta yaşamını sürdürmüş hastalar olmak üzere, hastaların %20-30'unda Negri cisimleri saptanamaz. Negri cisimlerinin aranması ucuz ve hızlı bir tanı yöntemidir, ancak duyarlılığı azdır. Seller boyası ile boyanan histolojik kesitlerde maviye boyanmış stoplazmada bu cisimler pembe-kırmızı görülürler. Inklüzyonların kanıtlanması için floresan antikor ile histolojik boyama gerekebilir (2, 11, 32).

2.7.2. Virüs izolasyonu:

Ölüm öncesinde insanlarda salya, beyin dokusu, BOS, idrar sedimenti, trakea salgısından virüs izole edilmiştir. Negatif sonuç hastalığı dışlamasa da, en iyi izolasyon sonuçları beyin biyopsi materyali ile elde edilir. Ölüm sonrasında ise santral ve periferik sinir dokusundan, ısırık yerindeki deriden, perikard, adrenal bezler, pankreas, safra kesesi, karaciğer gibi birçok organdan virüs izolasyonu olasıdır. Virüs izolasyonunun en başarılı olduğu dönem klinik hastalığın ilk iki haftasındaki nötralizan antikorların gelişmesinden önceki dönemdir. İnsan dışı, kan ve serumundan virüs izole edilememiştir. Virüsün primer izolasyonunda daha çok yenidoğan, bazen de erişkin fareler kullanılmaktadır. Farelerde inokülasyondan sonra bacaklarında flask paralizi, ansefalit ve ölüm görülür, MSS'lerinde Negri cisimciği ve kuduz antijenleri aranır. Kuduz virüsünün; fare nöroblastoma (NA C1300), civciv embriyon (CER = Chick Embryo-Related) ve yavru hamster böbrek (BHK 21 =Baby Hamster Kidney) hücre dizilerinde de başarı ile üretildiği bildirilmektedir. Üreyen virüsün identifikasyonu spesifik antiserumlar kullanılarak FAT (floresan antikor testi) ile yapılır. Doku kültüründe üretimin iki günde sonuç vermesi, deney hayvanlarına gereksinim göstermemesi ve ucuz olması yönünden fare inokülasyonundan daha avantajlıdır, ancak her yerde uygulanamamaktadır (1-3, 11, 36, 37, 39).

2.7.3. Serolojik testler:

ABD'nde 1960-1979 yılları arasında saptanan 38 kuduz olgusunun 22'sinde hasta yaşarken laboratuvar doğrulama testleri uygulanmış, kuduzla temas öncesi veya sonrası aşılınmamış hastalarda, en başarılı doğrulama yönteminin dolaşımdaki kuduz antikorlarının saptanması olduğu bildirilmiştir (17). Bu hastalarda antikor düzeyi en erken klinik hastalığın 6 ile 15'inci günlerinde saptanabilmiştir (15). Temas sonrası profilaksi uygulanmamış olanların %50'sinde hastalığın 8'inci gününde, %100'ünde hastalığın 15'inci

gününde antikorların varlığı gösterilmiştir. Aynı hastalarda BOS'ta antikor 8-16'ncı günlerde saptanabilmiştir. Gerek önceden aşılanmış, gerekse aşılanmamış hastalarda BOS'ta antikor titresini, serum antikor titresinin en az iki kat ve genellikle dört kat veya daha fazla düşük düzeyde bulunmuştur (17). ABD'nde kuduz antikorları 1974 yılı öncesinde fare nötralizasyon testi ile aranırken, bu tarihten sonra standart yöntem olarak Rapid Fluorescent Focus Inhibition Testi (RFFIT) kullanılmıştır. Bu test kuduz nötralizan antikorları ölçmede standart testtir (2, 17). Ayrıca 1993 yılında RFFIT ve FIMT (Fluorescent Inhibition Micro Test) temel alınarak Simplified Fluorescent Inhibition Micro Test (SFIMT) geliştirilmiş ve bir referans serolojik test olarak kullanılmaya başlanmıştır (43). In-vitro doku kültürü nötralizasyon testinin sonuçları 24 saat içinde alınabilir ve testin özgünlüğü ile duyarlılığı, tamamlanması 14 gün süren in vivo fare testi ile aynıdır (2, 11). HDCV ile aşılanmış kişilerde, tanı koyarken BOS'taki antikor düzeylerinin saptanması yararlı olabilir. Genellikle serum titrelerinin %2-25'i düzeyinde saptanan yüksek BOS titreleri, yalnızca klinik hastalıkta görülebilir (40, 44).

Saflaştırılmış kuduz glikoproteininin kullanıldığı bir ELISA testi ile insan ve bazı hayvan türlerinin serumlarında kuduz nötralizan antikorları araştırılmıştır. Bu testin saha araştırmalarında da uygulanabilmesi yararlı bulunmuştur (1).

Bouhry ve arkadaşlarının (45) yaptıkları bir çalışmada, hızlı bir kuduz enzim immün tanı yöntemi (Rapid Rabies Enzyme Immunodiagnosis = RREID), kuduz doku kültürü infeksiyon testi (RTCIT) ve floresan antikor testi (FAT) ile karşılaştırılmıştır. Her iki testin de FAT'ı doğrulamak amacıyla kullanılabileceği öne sürülmüştür.

2.7.4. Virüs antijenlerinin araştırılması:

Kuduz virüsü antijenleri, beyin ve deri biyopsi dokusu, kornea sürüntüsü veya diğer hasta örneklerinde immünofloresan kuduz antikor boyama yöntemi

ile de gösterilebilirse de yanlış negatif sonuçlar çıkabilir (1, 2, 3). Hastanın tanısına yardım edebilecek en kolay, yararlı ve güvenilir direkt immunofloresan yöntemi boyun dermal punch biyopsisi kullanılarak yapılandır. Yöntemde saçlı derinin oksipital bölgesinden alınan ve mümkün olduğu kadar çok kıl folikülü içeren en az 3 mm çapındaki biyopsi materyali kullanılır. Bu teknik ile alınan sonuçlar oldukça özgün ve duyarlıdır (36, 46). Ayrıca viral antijen araştırmak amacıyla tanısal ve epidemiyolojik çalışmalarda ELISA testleri ve PCR yöntemi de kullanılmaktadır (1, 13, 36).

2.8. Ayırıcı Tanı:

Kuduz bir hayvan tarafından ısırıldığı bilinen; hiperaktivite, hidrofobi ve aerofobi gibi spesifik bulgular saptanan bir hastada tanı kolaydır. Fakat hayvan teması hatırlanmıyor olabilir. Endemik bir bölgede nörolojik, psikiyatrik veya laringofaringeal semptomlar görüldüğünde kuduzdan şüphelenilmelidir (2, 3).

Kuduzla en sık karıştırılabilen durumlar arasında ; tetanoz; poliomyelit ve Herpes simplex virüs ansefaliti gibi tedavi edilebilir diğer viral ansefalitler; kuduz korkusu veya psikozu; sinir dokusu kaynaklı aşılarından sonra gelişen aşı sonrası ansefalomyeliti (postvaccinial encephalomyelitis); Guillain-Barre Sendromu ve transvers miyelit gibi diğer paralitik nörolojik hastalıklar; MSS'de etkili ilaçlar ve atropin benzeri bileşiklerle zehirlenmeler; intrakraniyal kitle, serebrovasküler olaylar ve epilepsi sayılabilir (2, 3).

2.9. Sağaltım:

Semptomlar geliştikten sonra kuduzun spesifik bir sağaltımı yoktur. Sağaltım, gelişen komplikasyonların mümkün olduğunca iyileştirilmesine yönelik olarak semptomatiktir, özellikle de solunum ve kardiyovasküler desteği sağlamaya yönelik yoğun bakımdan oluşur. Hastada sekonder bakteriyel

infeksiyonu önlemek, hastanın tükürük, gözyaşı, idrar, diğer vücut sıvı ve dokularında bulunabilen kuduz virüsünün hastane personeliyle temasını önlemek ve hastanın rahat etmesini sağlamak için tüm kuduz hastaları derhal hastanede özel bir odada gözlem altına alınmalı, dış uyaranlar en aza indirilmeli, iyi bir tıbbi bakım ve fenotiazin türü trankilizanlar ile sedasyon uygulanmalıdır. En önemli klinik problemler; hipoksi, kardiyak aritmi, sıvı-elektrolit dengesizlikleri, hipotansiyon, beyin ödemi ve iatrojenik komplikasyonlardır. Bu nedenle kardiyak ve nörolojik fonksiyonlar, ayrıca arteriyel kan gazları monitörize edilmeli, anormallikler standart önlemlerle tedavi edilmeye çalışılmalıdır. Beyin ödeminde steroid uygulamasından kaçınılmalı, mannitol gibi ozmotik diüretikler tercih edilmelidir. Yoğun bakım hayatı 3-4 hafta uzatabilir, ancak 133 güne kadar çıktığı da bildirilmiştir (2, 3, 13, 17, 32, 40, 44).

Sağaltım amacı ile birkaç olguda yüksek doz kuduz immunoglobulini kullanılmış, belirgin bir etki görülmemiştir. Doku kültüründe ve hayvan çalışmalarında interferonun kuduz virüsüne karşı etkin olduğu bildirilmiş, ancak hem periferik hem intratekal yolla klinik hastalık başladıktan 2-14 gün sonra, insan lökosit interferonu verilen 5 kuduz hastasında sadece klinik gidişin uzadığı görülmüş ve tüm hastalar kötüye gitmiş ve ölmüştür. Antiviral ajanların deneyimi kısıtlıdır, daha önce kullanılmış, adenosine arabinoside, isoprinasine ve tribavirin (ribavirin) gibi antiviral ajanlar etkili olmamıştır (1-3, 42, 47, 48).

Kuduz ansefalitinden iyileştiği iddia edilen dört olgu vardır. Temas sonrası profilaksi ve daha sonrada yoğun bakım uygulanmış olanlardan iki tanesi tam olarak iyileşmiş (40, 44), birinde ise nörolojik sekel kalmıştır. Tanı serum ve BOS'taki yüksek kuduz nötralizan antikor seviyeleri temel alınarak konulmuş, virüs veya antijen identifiye edilmemiştir. Dördüncü hasta daha önce aşılanmış (temas öncesi profilaksi) bir mikrobiyologtur. Tanı yine serolojik olarak yapılmış ve hastada nörolojik bozukluk kalmıştır (3, 42).

2.10. Korunma:

Kuduz, bilinen insan infeksiyonları arasında en yüksek ölüm oranına (yaklaşık %100) sahiptir. Bu nedenle hastalığı önlemek sağaltmaktan daha önemlidir. Kuduz bir zoonoz olduğundan, insanları kuduzdan korumada, hayvanlarda, özellikle de evcil hayvanlarda, kuduzu kontrol altına almak çok önemlidir (13, 49).

Kuduzdan korunma deyince; kuduz şüpheli hayvanlarla teması olanlarda infeksiyonun gelişiminin önlenmesi (Temas sonrası profilaksi), Mesleği gereği risk altındaki kişilerin korunması (Temas öncesi profilaksi) ve hayvanların infeksiyondan korunması ile infekte hayvanlarla temasın engellenmesi (Evcil ve vahşi hayvan kuduzunun kontrolü) akla gelir (13, 49).

2.10.1. Temas sonrası profilaksi:

Bu uygulamada amaç, yarada bulunması olası virionun sinir sonlanmasına girmesinden önce, yarada kuduz virüsünü öldürmek veya nötralize etmektir (3).

Karar verilmesi gereken en önemli konu; temas sonrasında profilaksiye başlamanın gerçekten gerekli olup olmadığıdır. Temas sonrası profilaksinin gerekliliğini saptamada, bazı koşullar değerlendirilip, ona göre karar verilmelidir (temasın tipi, temasın görüldüğü veya hayvanın geldiği bölgede kuduzun varlığı, hayvanın türü, hayvanın klinik ve aşılanma durumu, kullanılan aşının tipi, gözlem için hayvanın uygunluğu, olası ise kuduz yönünden hayvanın laboratuvar test sonuçları (1).

İlk göz önüne alınacak konu, kişinin virüsle temas edip etmediğidir. Kuduz insanlara ısırık veya ısırık dışı temas ile bulaşır. Isırık teması; hayvanın dişinin deriye penetrasyonu ve yaranın infeksiyöz olabilecek salya ile kontaminasyonu şeklinde tanımlanabilir. Isırık dışı temas ise tırmalanma yerlerinin, sıyrıkların, açık yaraların veya müköz zarların salya veya kuduz

Ayrıca kornea transplantasyonu, laboratuvarında veya kuduz yaralarının yaşadığı mağaralarda aerosolize virüsün inhalasyonu da bu kategoriye girer. Kuduz virüsü olguların büyük bir bölümünde ısırık yolu ile geçer. Kuduz bir hayvan tarafından ısırılma sonrası kuduz riski (%5-80), tırmalanma sonrası riskten (%0.1-1) yaklaşık 50 kat daha fazladır. Kuduz bir hayvanı sevmek, kanı, idrarı veya dışkısıyla temas etmek, ısırık gibi önem taşımaz ve profilaksi gerektirmez (2, 18, 35).

Temasın olduğu coğrafik bölgede o hayvan türünde kuduz görülüp görülmediği profilaktik sağaltıma karar vermede önemlidir. Yarasa gibi belirli bazı hayvanlarla temas durumunda, hayvanın kuduz olmadığı laboratuvar testleri ile kanıtlanmadıkça, temas sonrası profilaksi rutin olarak gereklidir. Sincap, hamster, kobay, gerbil, çizgili sincap, sıçan ve fare gibi küçük kemirgenler, tavşan ve yaban tavşanları gibi lagomorfların nadiren kuduzla infekte oldukları saptanmış (%0.01), insan kuduzuna neden oldukları bildirilmemiştir. Bu hayvanların ısırıkları nadiren temas sonrası profilaksi gerektirir. Ancak kuduz oldukları kesin olarak düşünülüyorsa profilaksi başlanır. Vahşi yaşamda kuduzun endemik olduğu bölgelerde rakun, kokarca ve tilki gibi hayvanlarda çok yüksek oranda kuduz pozitifliği saptanmıştır. Bu nedenle, özellikle endemik bölgelerde olmak üzere bu tür vahşi hayvanlarla temasta rutin olarak profilaksi başlanmalıdır. Ayrıca bir bölgede vahşi kara hayvanlarında kuduz varsa, kedi-köpek ısırıklarında da hayvanın laboratuvar sonuçlarının gelmesi beklenmeden profilaksiye başlanmalıdır (1, 2, 18, 35).

Temasta bulunan hayvan aşıllı bir kedi veya köpekse, bulaş pek mümkün değildir. Evcil kedi ve köpeklerde hayvanı öldürerek, beynini kuduz açısından inceleme yerine, karantinaya ve gözlem altına almak tercih edilir. Evde beslenen böyle kedi ve köpeklerle düşük riskli bölgelerdeki sağlıklı görünüşlü kedi ve köpeklerle temasta gözlem süresinin sonuna kadar temas sonrası profilaksiye başlanması ertelenebilir. Kedilerde hastalığın ortalama 5 gün, köpeklerde ise 3 gün sürdüğü göz önüne alınarak, bir kedi veya köpeğin karantina altında 10 gün sağlıklı kalması durumunda, temas anında salyasında kuduz virüsü taşımadığına karar verilebilir. Köpeklerin, klinik hastalık

belirtilerinin gözlenmesinden 1-7 gün ve hatta 13 gün öncesine kadar virüs bulaştırabildiğini bildiren yayınlar vardır. Bunun yanında bu tür köpeklerde hiç belirtisiz uzun süre virüs çıkarabildiğine ilişkin çalışmalar varsa da, 10 günlük karantina uygulanan hayvanlarla teması olanlarda daha sonra insan kuduzu geliştiği bildirilmemiştir. Diğer at, inek gibi evcil hayvanların ısırıklarında 14 günlük karantina uygulanması önerilir. Bu süre içinde hayvanda şüpheli bir belirti ortaya çıkmazsa kuduz profilaksisi gerekmez. Vahşi hayvanlar için tam belirlenmiş güvenli ve yeterli bir karantina süresi saptanamadığı için, herhangi bir temastan sonra hayvan yakalanmışsa, hayvanın insani bir şekilde öldürülerek uygun laboratuvar testleri ile kuduz yönünden direkt olarak araştırılması daha doğrudur (1, 2, 18, 49-53). D.S.Ö.'nün temas sonrası profilaksi için önerileri çizelge 2.2'de izlenmektedir (1).

Çizelge 2.2: D.S.Ö. 1992 kuduz komitesinin temas sonrası sağaltım için önerdiği rehber

Kategori	Temas şekli	Önerilen sağaltım
I	Hayvanlara dokunulması veya beslenmesi, Sağlam derinin yalanması.	Güvenilir bir hikaye alınabiliyor ise sağaltıma gerek yoktur.
II	Çıplak derinin hafifçe ısırılması, Kanama olmadan küçük tırmalama veya zedeleme, Sağlam olmayan derinin yalanması.	Hemen aşı uygulamasına başlanır, 10 günlük gözlem süresince hayvan sağlıklı ise veya hayvan insani bir şekilde öldürülmüş ve uygun laboratuvar testleri ile kuduz olumsuz olduğu saptanmış ise sağaltım kesilir.
III	Deriyi geçen tek veya multipl ısırma veya tırmalamalar, Müköz membranların hayvanın salyası ile kontaminasyonu.	Hemen kuduz immünglobulin ve aşı uygulamasına başlanır, 10 günlük gözlem süresince hayvan sağlıklı ise veya hayvanın uygun laboratuvar testleri ile kuduz olumsuz olduğu saptanmış ise sağaltım kesilir.

Temas sonrası profilaksi üç komponentten oluşur; lokal yara sağaltımı, kuduz immünglobulin ile pasif immünizasyon ve aşılama ile aktif immünizasyon. En iyi etkiyi sağlamak her üç komponentden oluşan kombinasyonun uygun şekilde uygulanmasına bağlıdır. Bunun tek istisnası daha önce temas öncesi veya temas sonrası profilaksi uygulanmış ve koruyucu düzeyde nötralizan antikora sahip olanlardır. Bunlarda antiserum uygulanmasına gerek yoktur.

Özellikle riskli ve ağır yaralanmalarda tedaviye hemen başlanılmalıdır. Eğer risk düşük ve tanı için laboratuvar olanakları yeterliyse 48 saat beklenebilir (2)

2.10.1.1. Lokal yara sağaltımı: Kuduz bir hayvanla temas eden bölge veya yaranın derhal temizlenmesi kuduzu önlemede en etkili yöntemdir. Konsantre (%20) sabun solüsyonu ile iyice temizleme ve su ile durulamayı gerekiyorsa yaranın debrütmanı takip etmelidir. Hayvan deneylerinde özellikle yüzeysel yaralanmalarda etkin şekilde %20 sabun solüsyonu ile yapılan yara temizliğinin infeksiyon gelişme riskini %90 azalttığı gösterilmiştir. Yara derinse, su ve sabun yara içine bir enjektör veya kateter yardımıyla basınçlı olarak verilmelidir. Daha sonra olası ise povidone-iodine solüsyonları veya %40-70'lik alkol gibi bir virüsidal ajanla temizlenmelidir. Dörtlü amonyum bileşikleri gibi virüsidal ajanlar %20 sabun solüsyonundan daha etkili değildir, ayrıca sabun tarafından nötralize edilir ve genellikle önerilmemektedir. Derin dokular içine virüs inokülasyonunu engellemek için yaraya çok gerek olmadıkça sütür atmaktan kaçınılmalıdır. Ancak yara çok genişse infeksiyon gelişme riski veya kozmetik nedenlerle sütür gerekliyse işlemden hemen önce iğnenin batırılacağı her bölgeye 0.1ml insan kuduz immünglobülini (Human Rabies Immunoglobulin =HRIG) enjekte edilmesi önerilir. Gerekli durumlarda tetanoz profilaksisi ve bakteriyel infeksiyonlar için antimikrobiyal tedavi uygulanmalıdır (2, 3, 13, 14, 49).

2.10.1.2. Pasif antikor uygulanması ve kuduz immünooglobulinler: Aşı ile aktif bir antikor cevabı yaklaşık bir haftada sağlanır. Aşının ilk dozu ile beraber verilen kuduz immünglobülin (Rabies Immunoglobulin =RIG) nötralizan antikorların olmadığı ilk 7-10 günlük dönemde pasif korunma sağlar. Bu sadece yaradaki virüsleri nötralize etmekle kalmaz, aynı zamanda T lenfositlere aşı antijenlerinin sunumunu da artırır (2, 3, 31).

Kuduz aşıları ile kombine antiserum tedavisinin etkinliği, pek çok hayvan çalışmalarında, ayrıca İran ve Çin'de kuduz kurtlarca çok sayıda kişi ısırıldığında uygulanan karşılaştırmalı temas sonrası profilaksilerde gösterilmiştir (3, 54, 55). 1954 yılında bir İran kasabasında kuduz bir kurt 29

kişiyi yaralamış. Bu 29 kurbandan sinir dokusu aşısının yanında bir veya birden çok dozda antiserum uygulanan 17 hastadan (13'ü şiddetli, baş, boyun, kol yaralanması) sadece biri, tek başına aşı uygulanan 12 hastanın ise (4'ü şiddetli yaralanma) 3'ü ölmüştür (2, 55).

Yapılan çalışmalarda; aşı ile kombine edilen insan kaynaklı kuduz immünglobulini (Human Rabies Immunoglobulin = HRIG) dozunun yetersiz veya yüksek dozda olması durumunda düşük veya saptanamayan antikor yanıtlarının oluştuğu bildirilmiştir (56). Ayrıca hücre kültürü aşılarının standart 5 dozluk, intramüsküler aşılama şeması dışındaki rejimlerde de HRIG'in standart dozlarında bile, aşı ile aktif antikor gelişimini baskıladığı gösterilmiştir (2, 57). Standart doz ve rejimde verilen HRIG aşıdan uzak bir bölgeden uygulandığında aktif antikor gelişimini baskılayıcı etkisi minimal düzeydedir (2, 3). Bir çalışmada fazla güçlü olmayan sinir dokusu ve avian kökenli aşılarda kombine edilirse ERIG'inde benzer şekilde aktif antikor cevabını azalttığı gösterilmiştir (58).

Kuduz immünoglobulinler; at orjinli olan ERIG (Equine Rabies Immunoglobulin) ve insan orjinli HRIG (Human Rabies Immunoglobulin) olmak üzere iki türdür (13). Heterolog ERIG içerdiği yabancı proteinler nedeniyle sıklıkla (%16-50) serum hastalığına neden olduğu bildirilmektedir (13, 59). Ancak son zamanlarda geliştirilen ve kullanılmaya başlanan pürifiye ERIG preparatı serum hastalığı riskini belirgin şekilde azaltmıştır (%0.8-6) (2). ERIG kullanımı sırasında; sıklığına göre enjeksiyon yerinde lokal reaksiyon, generalize ürtiker, eritematöz döküntüler, mafsals ağrısı, ateş ve atopik hastalarda astım krizi gibi %6.19 oranında total olumsuz etki görüldüğünü ve steroid tedavisi gerektirecek bir yan etki görülmediğini bildiren (60) ve yan etki oranının %1'in altında olduğunu bildiren (61) yayınlar vardır. İnsan orjinli olan HRIG hem potent, hem de yabancı protein içermediği için anafilaksi ve serum hastalığı riski taşımayan bir antiserumdur. Yanılanma ömrü ERIG'e göre daha uzundur. ABD'de herhangi bir virüs geçişine neden olduğu veya advers reaksiyon (olumsuz etki) bildirilmemiştir (2, 13). Fakat HRIG, ERIG'e göre 10 kat daha pahalıdır (kişi başına 296 \$) ve gelişmekte olan ülkeler için temini zordur. Bu nedenle HRIG

temininde güçlük çeken bir çok gelişmekte olan ülke Pürifiye ERIG'i efektif olarak kullanmaktadır (2, 3, 61).

HRIG için optimum doz 20 IU/kg, ERIG için 40 IU/kg' dir (1-3, 62). Anatomik bölge uygunsa toplam dozun yarısının yara çevresine verilmesi, burun, parmak, gibi yara yeri anatomik olarak küçükse yara yerine verilen miktarın uygun olarak azaltılması önerilmektedir (1-3, 36). Bununla birlikte en son yayınlarda uygun olduğu koşullarda toplam dozun tamamının yara içerisine ve etrafına yapılması önerilmektedir (14, 49). Antiserum aşından farklı bir enjektörle ve farklı bir bölgeye (gluteal bölgeye derin enjeksiyon) uygulanmalıdır (3, 13, 14). ERIG kullanımına karar vermede temasın şiddeti ve antiseruma kişinin deri testi hassasiyeti önemliyse de (2), bazı yayınlarda intradermal deri testinin serum hastalığı ve anafilaksiyi önceden tahmin etmede yetersiz olduğu bunun yerine anafilaksi riskine karşı enjeksiyonun bir sağlık kuruluşunda yapılması ve el altında mutlaka adrenalin bulundurulması gerektiği bildirilmektedir (3, 13). HRIG'in hastanın yaşına, ısırığın şiddetine ve lokalizasyonuna, ısırılan hayvanın türüne bakılmaksızın uygulanabilir (2). Antiserum ilk aşı dozu ile birlikte verilmelidir, Herhangi bir gecikme durumunda ilk aşı dozundan sonraki 7 gün içinde uygulanabilir. Daha sonraki günlerde aktif antikor cevabı oluşacağından ek olarak antikor uygulaması gerekmeyecektir (2, 13).

Son zamanlarda hücre kültürlerinde daha ucuz, emniyetli ve bol miktarda IgG α monoklonal antikor üretimine yönelik çalışmalar sürdürülmektedir (13).

2.10.1.3. Aşı uygulaması: HDCV (Human Diploid Cell Vaccine), PVRV (Purified Vero cell Rabies Vaccine), PCEC (Purified Chick Embryo Cell Vaccine), ve PDEV (Purified Duck Embryo Vaccine) gibi tüm hücre kültüründe üretilen aşılardan uygulama şemaları birbirine çok benzer. Prospektüslerindeki 1-2 günlük farklar önemli değildir (13, 63-66). Tüm bu aşılardan her bir dozunun potansi en az 2.5 IU olmalıdır (1). Hücre kültürü aşılardan çoğunun ticari şeklinde olduğu gibi HDCV'nin bir immünizasyon dozu 2.5 İÜ/ 1ml iken PVRV'nin bir immünizasyon dozu 2.5 İÜ/ 0.5ml'dir (63-66). Bu aşılardan temas

sonrası profilakside D.S.Ö.'nün önerdiği standart rejim; yaş farkı gözetilmeksizin 2.5 İÜ dozunda, 0, 3, 7, 14 ve 30'uncu (veya 28) günlerde, intramüsküler enjeksiyon şeklinde uygulanan beş dozluk aşılama şemasıdır. D.S.Ö. daha önce önerdiği 90. gündeki altıncı doz aşı isteğe göre yapılmaktadır. Ayrıca, bu aşılamanın immünolojik gücü nedeni ile beşinci dozdan sonra nötralizan antikör seviyesini ölçmek için rutin serolojik test önerilmemekte, bağışıklığı baskılanmış kişilerde aşının son dozundan sonra antikör seviyesi kontrol edilmesi gerekmektedir. Daha önce temas öncesi profilaksi uygulanmış bireylere daha sonra temas sonrası profilaksi uygulamak gerektiğinde, 0 ve 3'üncü günlerde bir hücre kültür aşısı 1.0ml IM uygulanır, RİG uygulanması gerekmez (49).

Aşı erişkinlerde deltoid adaleye uygulanmalıdır. Küçük çocuklarda uyluğun anterolateral bölgesine verilebilir. Düşük nötralizan antikör yanıtına neden olduğundan asla gluteal bölgeye yapılmamalıdır. (1-3, 49). Temastan sonra 24 saat içinde HRIG ile birlikte uygulanmış gluteal bölgeden verilen HDCV'ye rağmen bir hastada kuduz geliştiği bildirilmiştir (67). Ülkemizde de Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü'nün 2001 yılındaki yönergesi doğrultusunda beş dozluk şemaya geçilmiştir (68).

Yine doku kültüründe üretilmiş aşılardan için hem maliyeti azaltmak, hem de daha erken antikör cevabı sağlamak amacıyla geliştirilmiş ve D.S.Ö. tarafından onaylanmış alternatif rejimlerden birincisi PVRV'nin 0, 3 ve 7. günlerde iki ayrı yerden (her iki taraf önkol veya üst kol), 30 ve 90. günlerde bir yerden İD 0.1 ml uygulamasını içeren rejimdir (1, 3, 13, 35). Diğer bir multiple-site intradermal yöntem; HDCV'nin 0. gün sekiz bölgeden (sağ ve sol deltoid, suprascapuler, uyluk, ve alt abdominal bölge), 7. gün dört ayrı bölgeden (deltoidler ve uyluklar), 28. ve 91. günlerde bir bölgeden (deltoid) 0.1ml dozunda İD olarak uygulanmasıdır (3). Enjeksiyon yerlerinin dağılımı bir çok farklı lenf nodlarını stimüle etmek için tasarlanmıştır. Her bir doz için ayrı enjektör kullanılmalı, açılan şişeler 4-8°C de saklanmalı, mümkün olduğunca çabuk tüketilmeli, İD enjeksiyonlar bu konuda eğitilmiş personeller tarafından yapılmalıdır. Bu rejimlerde nötralizan antikör indüksiyonu hızlıdır, %88 yedinci günde pozitif ve 1 yıl sonra ölçülebilir düzeyde kalır, klasik İM rejimlere göre maliyeti oldukça

azdır (1, 3). Kısaltılmış şemalardan üçüncüsü ise 2-1-1 rejimidir. Bu rejimde 0. gün her iki deltoid adaleye 1.0ml HDCV İM olarak yapılır, 7. ve 21. günlerde birer doz daha İM olarak uygulanır. Bu yöntemde daha erken bir antikor cevabı sağlanabildiğinden genellikle temas sonrası tedavide gecikme, RİG yapılamaması, riskli bölgelerde multipl yaralanma durumlarında ve immun yetmezlikli hastalarda önerilmektedir (1, 13, 35, 57).

D.S.Ö.'nün en son 1992'de toplanan kuduz komitesinde artık birçok ülkede kullanımdan kalkmış, sadece gelişmekte olan ülkelerde kullanılmakta olan sinir dokusu aşıları için, belli bir şema önerilmemiş, bu aşıları kullanan ülkelerin ulusal otoritelerince bir aşılama şeması belirlenmesi uygun görülmüştür (1). Bir çok gelişmekte olan ülkede halen kullanılan Semple tipi aşının da dahil olduğu bu sinir dokusunda üretilen aşılar genellikle yaranın şiddetine göre 14 yada 21 gün süreyle hergün, yaraya ve yaşa bağlı olarak 1-6 ml miktarlarda, anterior abdominal duvar üzerinden (büyük miktarda aşı için uygun bir bölge olduğu için) subkutanöz olarak uygulanmaktadır (1, 3, 13).

Kuduz aşıları bölüm 2.11'de daha ayrıntılı olarak ele alınmıştır.

2.10.2. Temas öncesi profilaksi:

Temas öncesi profilaksi veterinerler, veterinerlik öğrencileri, bazı laboratuvar çalışanları, zoologlar, mağaralarda araştırma veya çalışma yapanlar gibi yüksek risk gruplarına ve kuduzun sürekli bir tehdit oluşturduğu yörelerde yaşayan veya 30 günden uzun süreli bu yerleri ziyaret eden bireylere uygulanır. Temas öncesi profilaksi, temas sonrası sağaltımı gecikebilecek bireylerde ve aşırı risk altındaki bireylerde korunma sağlar; ayrıca aşının rapel dozları uygulandığında hızlı anamnestic antikor yanıtına temel oluşturur. Buna ek olarak ilerde temas sonrası profilaksi gerektiğinde HRIG ile pasif bağışıklamaya gereksinimi ortadan kaldırır. Temas öncesi aşılama, hücre kültürü aşılardan herhangi biri 0, 7 ve 28'inci (veya 21) günlerde, 1.0ml, toplam üç doz, intramusküler olarak uygulanır. Ekonomik bir alternatif olarak aynı aralarla 0.1

ml intradermal olarak uygulanabilir. Veterinerler ve laboratuvar çalışanları 6 ayda bir serum nötralizan antikor seviyelerine baktırmalı ve D.S.Ö. tarafından kabul edilen koruyucu minimum titre olan 0.5 İÜ/ml'nin altına düşmesi durumunda 1 doz rapel aşı yapılması önerilir. Eğer bu imkan yoksa her yıl bir kez tekrar aşı uygulanması önerilmektedir (2, 49).

Hasta bakımında görevli personeli korumak amacıyla yüz maskesi, eldiven ve önlük yeterlidir; bir ısırığa maruz kalmadıkça, hastanın tükürük, idrar, veya diğer vücut dokuları ile belirgin ve ağız ağıza resusitasyon gibi açık bir temas yoksa temas öncesi ve sonrası kuduz profilaksisi gerekli değildir (2).

2.10.3. Evcil ve vahşi hayvan kuduzunun kontrolü:

İnsan kuduzunu önlemenin temel ilkelerinden birincisi, evcil hayvan, özellikle de köpek kuduzunun eradikasyonudur. Böylece kontrolü çok zor olan vahşi hayvan kuduzu ile insan arasında tampon oluşturularak insana bulaş büyük ölçüde önenebilir. Özellikle ülkemiz gibi insan kuduz vakalarının hemen hemen hepsinin evcil hayvanlardan, özellikle de köpeklerden bulaştığı ülkelerde evcil hayvan kuduzu kontrolü daha da önemlidir (4, 13, 27, 49).

Sokak köpeklerinin sayıları, yiyecek ve barınakları ile yakından ilişkilidir. Bu yüzden tek başına sokak köpeklerinin öldürülerek sayılarını azaltma girişimlerinde üremede bir artış ve sayının hızla eski seviyeye ulaştığı görülmüştür. Sonuçta sadece hayvan öldürmenin geçici bir çözüm olduğu, sorunu çözmediği kesindir (1, 3, 27). Temel amaç sokak hayvanlarının sayısını azaltmaya yönelik programlara ek olarak ulaşılabilen tüm köpeklerin aşılmasını olmalıdır. Toplum yapısına uygun olarak geliştirilen bazı köpek kitle bağışıklama programları ile Arjantin, Brezilya, Peru, Japonya ve Malezya gibi ülkelerde kent bölgelerinde köpek kuduzu elimine edilmiştir. Bu programlar köpeklerin %80'ini aşılamaı amaçlar. Bu oranın kuduz bulaş döngüsünü kırmak için genellikle yeterli olduğu bilinmektedir. Isı değişikliklerine daha az duyarlı olması nedeni ile bu bölgelerde, saha çalışmalarında, daha rahat uygulanan inaktive aşılar

önerilmekte, canlı atenüe aşılarında kullanılabilir. İnaktive aşıların diğer bir avantajı da enjeksiyonu uygulayan sağlık personelinin aşığı kaza ile kendine inoküle etmesinin sorun yaratmamasıdır. Uygulanan kampanyalar sırasında sağlık durumuna, yaşına ve ağırlığına bakılmaksızın tüm kedi ve köpeklerin aşılmasına özen gösterilmesi, ilk aşı uygulanan 3 aydan küçük yavrular 6. aya geldiklerinde, aşının yinelenmesinin büyük önem taşıdığı, böyle hayvanlara renkli etiket veya renkli plastik boyunluk takıldığında, hayvan sahiplerinin hayvanlarını aşığı getirmeye motive oldukları ve kampanyanın başarı şansının arttığı bildirilmektedir (1, 3).

Evcil hayvan kuduzunu kontrol için aşılama ve başıboş hayvanların sayılarını azaltma çalışmaları dışında yapılması gerekenler şöyle özetlenebilir; halkın kuduz konusunda eğitilmesi ve hayvan sahibi olma konusunda teşvik edilmesi; sahihsiz hayvan kısırlaştırma projeleri oluşturulması; hayvan toplama merkezleri oluşturulması; sahipli hayvanlarla ilgili yasal düzenlemeler getirilmesi, sahihsiz ve başıboş hayvanların beslenmesi ve üremesinde uygun ortamlar oluşturan çöplüklerin ıslahı; ölen hayvanların çöpe atılma yerine gömülebileceği alanlar hazırlanması; Kuduzun bildirim ve sürveyansının sağlanması; tüm bu çalışmaları planlayıp yürütecek iyi bir örgütleme ve organizasyon oluşturulmasıdır (6, 13, 27, 69). 1580 sayılı kanunun ilgili maddeleri ve 3285 sayılı kanun ile buna dayanılarak 1989 yılında çıkarılan Hayvan Sağlığı Zabıtası Yönetmeliğinin ilgili maddelerinde ülkemizde hayvan kuduzu mücadele esas ve yöntemleri ile ilgili resmi kişi ve kuruluşlar belirtilmiştir (70).

Vahşi yaşam kuduzunu kontrol altına almaya yönelik programların çoğu konakların nüfus düzeyini düşürmeye yönelik olmakla beraber, tuzak, zehirlenme ve avlama gibi sayıyı azaltmaya yönelik çalışmalar çok başarılı olmamıştır. Son zamanlarda vahşi hayvanların aşılması için rekombinant oral aşılar geliştirilmiştir. Bu aşı kümes hayvanlarının başlarına veya yemlere enjekte edilerek elle veya havadan vahşi hayvanların yaşadığı bölgelere dağıtılmıştır. Bu yöntemle çoğu Avrupa ülkesi ve Kanada'da olumlu sonuçlar alınmıştır (1-3). Latin Amerika gibi, sığırlara kuduz bulaşında vampir yarasaların önemli rol

oynadığı ülkelerde, yaralarının çok hassas olduğu antikoagülanlar sığırlara verilebilir (3).

2.11. Kuduz Aşılan:

1882' de Louis Pasteur tarafından elde edilen aşından günümüze kadar geçen, yüzyılı aşkın sürede çeşitli yöntemlerle kuduz aşıları üretilmiştir ve bu aşılarla her yıl milyonlarca kişi temas sonrası tedavi altına alınmaktadır. Son zamanlarda üretilen insan kuduz aşılarının hemen hepsi çeşitli ortamlarda üretilmiş ölü, tam virüs içerir. Kuduz profilaksisinde kullanılan en önemli kuduz aşılarını gruplar halinde sınıflamak mümkündür (3, 13, 71).

2.11.1. Sinir dokusu aşıları (Nervous Tissue Vaccines= NTV):

Bunlar sabit kuduz virüsü ile infekte edilmiş koyun, keçi, tavşan veya yeni doğan fare beyinlerinin, fizyolojik sudaki fenolle inaktive edilmiş %5, %10 veya %20'lik süspansiyonlarıdır. Bu tür aşılar ucuz ve üretimlerinin kolay olması nedeni ile gelişmekte olan çeşitli Asya, Afrika ve Güney Amerika ülkesinde halen kullanılmaktadır (2, 10, 32, 37, 49, 71).

İlk sinir dokusu aşısı 1982'de L.Pasteur tarafından kuduz bir sığırın beyninden izole edilen virüs ile hazırlandı. Bu virüsün tavşanlarda pasajları yapıldı ve virüs ile infekte tavşanın spinal kordu oda ısısında kurutulularak daha sonra bunun bir süspansiyonu hazırlandı. Canlı, atenué virüs içeren bu süspansiyonun multipl enjeksiyonlarından oluşan "Pasteur tedavisi" ilk kez 1985'te insana uygulandı. Bundan sonraki aşamada bu orijinal sinir dokusu aşısının etkinlik ve güvenilirliğini artırmaya yönelik çeşitli çalışmalar yapıldı; aşı, değişik saflaştırma, dilüsyon ve sterilizasyon işlemlerinden geçirildi, beyin dokusunda virüsü üretmek için farklı hayvanlar kullanıldı, inaktivasyon için değişik yöntemler (değişik kimyasal ajanlar ve ultraviole) kullanıldı (2, 12, 14,

31, 36, 72). Bütün bunlara rağmen sinir dokusu aşıları arasında çok fazla fark yoktur. Artık virüs inaktive ediliyor olmasına rağmen insana uygulama açısından sinir dokusu aşıları çok fazla artırılmamış biyolojik materyallerdir. Bir tedavi süresince insana 6-12 g beyin dokusu verilmiş olur (71). bu nedenle çeşitli intolerans olgularından sorumlu tutulan, ve yüz yılı aşkın süredir uygulanan bu aşuların etkinliği ise halen tartışmalı bir konudur (2, 71, 72).

2.11.1.1.Semple Aşısı: 1911'yılında Semple, Pasteur'ün aşısını 37°C'de fenolle inaktive ederek zararlı etkisini azalttı (3, 72). Fenolle inaktive edilmiş bir sinir dokusu aşısı olan Semple-Tipi kuduz aşısı Türkiye'nin de içinde bulunduğu bir çok ülkede, uzun yıllar üretilmiş ve kullanılmış, çoğu gelişmekte olan ülkede de halen kullanılmaktadır. Ucuz ve üretimi kolay olan aşının etkinliğinin tartışmalı ve komplikasyonlarının göze alınamayacak oranda yüksek olması nedeniyle zorunlu hallerde temas sonrası tedavide kullanılsa bile temas öncesi profilakside kullanılması önerilmemektedir (2, 3, 12, 37, 72). Veeraraghavan ve Subrahmanyam tedavi edilmeyenlerde %41.2 olan mortaliteyi semple aşısı ile tedavisi tam olarak tamamlanmışlarda %6.5 olarak bulmuşlar, aşının kuduzla yakalanıp ölecek olanlarda %84 koruma sağladığı sonucuna varmışlardır (71). Kuduz hayvanlarca ısırılmış kişilerde etkinliklerinin tahmini %5 ile %50 arasında değiştiğini düşünenler de vardır (37). Ansefalomyelit ve periferik nöropati gibi aşısı sonrası nörolojik komplikasyonların sıklığı yaklaşık 1/200-1/1600'dür ve bu kişilerin %14 ünde postvaksinal ensefalit sonucu ölüm görülür (2). Kabul edilen ensefalitojen, aşının içerdiği beyin dokusunun da bulunan myelin temel (basic) proteini ile bazı gangliozid ve fosfolipid elemanlarıdır, nörit ve ensefalit bu nöral antijenlere karşı gelişen antikora bağlı olarak ortaya çıkar ve genellikle ilk enjeksiyondan 1-2 hafta sonra görülür (1, 2, 73). Semple tipi kuduz aşısı birçok gelişmiş ülkede olduğu gibi artık ülkemizde de üretilmemekte ve kullanılmamaktadır.

2.11.1.2.Yeni Doğan Fare Beyni Aşısı (Suckling Mouse Brain Vaccine=SMBV):

İmmünolojik yoldan nörolojik komplikasyonlara neden olduğuna inanılan yabancı doku proteinlerinin eliminasyonu ile nörolojik komplikasyonların ortaya çıkışına engel olmak düşüncesiyle 1955 yılında geliştirilen yenidoğan fare beyni (SMB) aşısı henüz myelin dokusu gelişmemiş yenidoğan fare beyin dokusu kökenlidir. %1'lik SMB süspansiyonu ultraviyole ile inaktive edilmiş, koruyucu olarak fenol ve thimerosal kullanılmıştır. Sempile aşuya göre daha az myelin içermesine rağmen yine de aşılananlarda yaklaşık 1/8.000 sıklıkla nörolojik komplikasyonlar görülür; bununla birlikte, güçlü ve etkili bir aşı olarak kabul edilmektedir (2, 12, 71, 72, 74). Güney Amerika ve Asya'nın bazı kısımlarında kullanılmaktadır (3).

2.11.2. Embriyonlu yumurtada üretilen aşılar:

2.11.2.1.Ördek Embriyon Aşısı (Duck Embryo Vaccine=DEV): Sinir dokusu aşılarında görülen nöroparalitik olayların riskini azaltmak amacıyla, 1955'de, sabit virüs ile infekte edilmiş ördek embriyonlarından köken alan ve β -propiolaktone ile inaktive edilmiş olan DEV geliştirildi (31, 72). Bu aşı sinir dokusu aşılmasına göre çok daha düşük bir alerjik ansefalomyelit riski taşımakla beraber, immünojenitesi daha azdır. Aşı abdominal bölgeye subkutan yolla 23 kez uygulandığında bile %10-20 kişide antikor yanıtının oluşmadığı saptanmıştır (2, 31, 37, 75). 1958'den 1980'lerin başlarına kadar ABD'de yaygın olarak kullanılan aşının ciddi nörolojik komplikasyonları nadir gözlenmesine rağmen, oldukça sık lokal ve genel reaksiyonlar görülmüş ve olayın yumurta proteini ile ilişkili olduğu sonucuna varılmış, yumurta alerjisi olan kişilerde aşının uygulanmaması önerilmiştir (2, 72, 76). Ülkemizde rutin uygulamaya hiç girmeyen aşı, zayıf antikor cevabı ve ciddi yan etkileri nedeni ile daha önce bu aşının kullanıldığı ülkelerde de terkedilmiştir (14, 32).

2.11.2.2. Pürifiye Ördek Embriyon Aşısı (Purified Duck Embryo Vaccine =PDEV): Farklı araştırmacılar zonal santrifügasyon, pürifikasyon ve konsantrasyon yöntemleri ile orijinal DEV aşısını geliştirmeye çalışmışlardır (14, 72). Son zamanlarda üretilen pürifiye ördek embriyo aşısının tüm myelin ve diğer nöral proteinlerden yoksun olduğu, modern hücre kültürü aşıları kadar güvenli ve onlar kadar yüksek potense sahip olduğu iddia edilmekte ve hücre kültürü aşılarının rejimlerindeki gibi kullanılmaktadır (1, 3, 12).

2.11.3. Hücre kültüründe üretilen aşılar:

2.11.3.1. İnsan Diploid Hücre Kültürü Aşısı (Human Diploid Cell Vaccine=HDCV): 1964 yılında kuduz virüsünün WI- 38 (=Wistar Institute) insan diploid hücre kültürüne başarılı bir şekilde adapte edilmesi, güvenilir ve immünolojik açıdan güçlü, insan diploid hücre kuduz aşısının geliştirilmesine olanak sağlamıştır (34, 72). HDCV aşısının 8-19°C'da 20 saat, sulandırıldıktan sonra buzdolabında haftalarca antijenik yapısını koruduğu bildirilmiştir (77). Yine HDCV aşısının bir ay süreyle 37°C'de bırakılmasının antijenitesini azaltmadığı gösterilmiştir (78).

Gönüllü 35 kişi üzerinde yapılan bir araştırmada, HDCV, intradermal (İ.D) ve intramüsküler (İ.M) yolla uygulanmış, her iki yöntemin de antikor oluşumu yönünden eşit etkiye sahip olduğu, ancak İ.D. yol kullanıldığında daha sık lokal yan etki gözlemlendiği bildirilmiştir (79). 1975-1976 yıllarında İran'da kuduz köpek ve kurtlarla teması olan 45 kişiye HDCV ve katır antikuduz serumu uygulanmış, aşının etkisi dramatik bir biçimde gösterilmiştir. Isırık ile aşı arasındaki zaman aralığı 32 saatle 14 gün arasında olmasına karşın, tüm hastalarda antikor gelişmiş ve hiçbiri kuduzdan ölmemiştir (80).

ABD Halk Sağlığı Servisi immunizasyon uygulama öneri komitesi (ACIP), temas sonrası kuduz profilaksisi için, bir aylık dönem içinde 5 kez 1ml İ.M. HDCV uygulamasını önermektedir (49). Önceden D.S.Ö. tarafından önerilen ilk dozdan 90 gün sonra 6.doz aşı uygulaması artık isteğe bağlıdır. Bir çalışmada,

normalde 14 günde uygulanan dört doz HDCV üç gün içinde uygulanmış, bu şahısların %94,7'sinde yedinci günde yeterli düzeyde antikor oluştuğu gözlenmiştir (81, 82). Ancak HDCV'nin gluteal bölgeden HRIG ile birlikte 24 saat içinde verilmesine rağmen bir kuduz hastada kuduz geliştiği de bildirilmiştir (67).

1974-1988 yılları arasında dünyada 5 milyon doz HDCV kullanılmış, aşının yan etkilerine bağlı hiç bir ölüm olgusu bildirilmemiştir. HDCV' ye bağlı olarak baş ağrısı, kırıklık, ateş, lokal veya yaygın lenfadenopati, bulantı, karın ağrısı gibi sistemik reaksiyonların yanı sıra, daha sık olarak enjeksiyon yerinde yanma, ağrı ve endurasyon, nadiren de serum hastalığı benzeri bir tablo ve ürtiker izlenebilir (1, 3, 15, 83). HDCV kullanımına bağlı olarak, dört olguda Guillain-Barre Sendromu geliştiği bildirilmiştir; olguların dördü de sekelsiz olarak iyileşmiş, neden-etki ilişkisi gösterilememiştir (15, 84, 85). ABD'nde 46 ay boyunca toplanan 108 raporda 10.000 aşıda ürtikerden anafilasiye dek değişen sistemik alerjik reaksiyonlar bildirilmiş, olgulardan yalnız birkaçında hastaneye yatma gerekmiştir (86).

HDCV inaktive bir preparat olduğundan hamilelikte ve küçük çocuklarda kullanımı kontrendikasyon oluşturmaz (1). Çocuklarda yapılan HDCV aşısının ateş, karın ağrısı, lokal kaşıntı haricinde önemli yan etkisi gözlenmemiş, yetişkinlerden daha yüksek antikor yanıtı oluşturdukları bildirilmiştir (87, 88). Kontrollü klinik deneyler yapılmamış olsa da, HDCV uygulanan hamilelerde ve fetusda herhangi bir kötü etkisi bildirilmemiştir (89-91). Bir yenidoğanın hem kordon kanında, hem de serumunda antikor varlığı gösterilmiş, pasif transplasental geçişin varlığı kanıtlanmıştır; yenidoğanda antikor varlığı 1 yıl süreyle devam etmiştir (92).

2.11.3.2. Primer Hamster Böbrek Hücre Kültürü Aşısı (Primary Hamster Kidney Cell Vaccine= PHKCV): Çin'de yapılan bir çalışmada da belirtildiği gibi, PHKCV'nin az gelişmiş ülkelerde HDCV yerine seçilebilecek etkili, güvenli ve ucuz bir aşı olduğu bildirilmiştir (55, 93).

2.11.3.3. Primer Köpek Böbrek Hücre Kültürü Aşısı (Primary Dog Kidney Cell Vaccine): Güvenilir ve yüksek bağışıklama yeteneğinde, inaktive, primer hücre kültürü aşısıdır (1, 72).

2.11.3.4. Pürifiye Cıvciv Embriyon Hücre Kültürü Aşısı (Purified Chick Embryo Cell Vaccine= PCEC): Cıvciv fibroblastlarının primer kültüründe üretilerek, β -propiolakton ile inaktive edilmiştir. Yan etkisinin az, antijenitesinin HDCV aşısı ile kıyaslanabilir olması, ayrıca ekonomikliği ile PCEC alternatif bir aşı olarak kabul edilmiştir (1, 94, 95).

2.11.3.5. Pürifiye Vero Hücre Kuduz Aşısı (Purified Vero Cell Rabies Vaccine= PVRV): Vero sürekli hücre kültürlerinde üretilmekte olan bu aşı üretim tekniği nedeni ile HDCV'ye göre daha ucuza malolmaktadır; bu aşının HDCV'nin yarısı kadar hacimle (0.5ml), HDCV'ye eşit veya daha yüksek oranda antikor yanıtına yol açtığı gösterilmiştir (96). HDCV ile PVRV'nin oluşan antikorlar açısından karşılaştırıldığı bir çalışmada, PVRV'ye karşı daha erken antikor yanıtı olduğu, aşılarla birlikte HRIG uygulandığında, PVRV'ye karşı oluşan yanıtın etkilenmediği, HDCV'ye karşı oluşan yanıtın ise azaldığı gözlenmiştir (97). Kuduz olduğu bilinen hayvanlarca ısırılan 106 hastaya 6 doz PVRV, Bunların 47'sine ayrıca HRIG uygulanmış, Bireylerde 14. Günden sonra antikor olduğu, 1 yıl süreyle antikorların varlığını sürdürdüğü, hastalarda kuduzun gelişmediği gözlenmiştir (98).

2.11.3.6. Adsorbe Kuduz Aşısı (Rabies Vaccine Adsorbed= RVA): Rhesus maymun diploid hücrelerinde üretilen diğer kuduz aşısı RVA ile yapılan bir çalışmada, RVA ile ısırık öncesi immunizasyonda görülen serokonversiyon oranı, nötralizan antikorların oluşumu ve yan etkiler HDCV ile alınan sonuçlara benzer bulunmuştur. Bu aşı Amerika'da lisans almıştır ve kullanılmaktadır (1, 11, 99).

2.11.4. Rekombinant kuduz aşıları:

Son yıllardaki rekombinant teknolojinin kuduz aşılara uygulanması ile elde edilen aşılardır. Bu aşılar kuduz virüsü glikoproteinini kodlayan genomun bir vektör virüs içine yerleştirilerek kuduz virüsü glikoproteinini sentezleyen bir rekombinant virüs suşu elde edilerek hazırlanmaktadır. Vektör virüs olarak; bir orthopoxvirus olan vacciniavirus, yine bir poxvirus olan canary poxvirus, adenoviruslerden human adenovirus-5, baculovirusler kullanılmaktadır. Çeşitli hayvan deneylerinde rekombinant aşılardan oral yolla verilmesi yüksek titrede nötralizan antikor cevabı oluşturmuş ve yemler içine konularak bu aşılardan özellikle vahşi hayvanlar olmak üzere, hayvanların aşılamanasının kuduz kontrol programlarında yararlı olacağı düşünülmüştür. Ayrıca virüsler dışında BCG, E.coli ve attenüe salmonellalar gibi vektörler kullanılarak ta rekombinant aşılardan hazırlanmıştır (1, 13, 31, 37, 42).

2.11.4.1. Rekombinant İnsan Adenovirus Aşısı (Rekombinant Human Adenovirus Vaccine= Ad RG-I): Kuduz glikoprotein geni ile infeksiyöz insan adenovirus tip-5'in rekombinasyonu yolu ile geliştirilmiştir. Parateral ve oronazal yollarla deney hayvanlarında denenmiştir. İnsan ve hayvanlar için geniş çaplı hastalık kontrol programlarında, özellikle de vahşi hayvanların aşılamanasında yararlı olabileceği düşünülmektedir (100).

2.11.4.2. Canarypox Virus Rekombinant Aşısı (Canarypox Virus Rekombinant Vaccine= ALVAC RG): Kuduz glikoprotein geni için aracı olarak canarypox virus kullanılarak, insanda nonreplikatif pox viruslerin aşılama da kullanılabilmesi üzerinde çalışılmakta, olumlu sonuçlar alınmaktadır (1, 101).

2.11.5. Canlı virüs aşıları:

Canlı atenüe virüslerin, örneğin Flury suşunun, civciv embriyosu, köpek, kedi ve maymun hücre kültürlerine adapte edilmesi ile hazırlanan aşılardır. Bu aşıların kedi ve köpeklerde etkinliği kanıtlanmış olmasına rağmen, nadiren de olsa aşılanan kedi ve köpeklerde kuduza yol açması nedeniyle insanlarda kullanılmasının uygun olmadığı düşünülmektedir (31, 37).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Olguların Seçimi ve Örneklerin Alınması:

İzmir Konak Kuduz Tedavi Merkezi'ne başvurarak değişik kuduz aşılarıyla profilaksiye başlanan kuşkulu ısırık olgularından; İlk doz aşından sonraki 30'uncu, 90'ıncı günlerdeki (aşılamanın 5'inci ve 6'ncı dozu için geldiklerinde) ve 1 yıl sonraki başvurularda kan örnekleri alınmıştır. Alınan venöz kan örnekleri, 4 dakika 3,000 rpm'de santrifüje edilmiş ve serumları ayrılmıştır. Serumlar steril ependorf tüplere konularak -70°C'da dondurularak korunmuş ve tüm örnekler eşzamanlı olarak çalışılmıştır.

HDCV (Merieux Inactivated Rabies Vaccine™, Pasteur-Merieux), HDCV (Rabivac™, Chiron-Behring), PCEC (Rabipur™, Chiron-Behring) ve PVRV (Verorab™, Pasteur-Merieux) aşıları ile aşılanmış kişilerden ilk dozdan sonraki 30'uncu ve 90'ıncı günde toplanan 46'şar adet, Merieux Inactivated Rabies Vaccine™ ile aşılanılardan 1'inci yıl sonunda alınan 24 adet, Rabivac™ ve Rabipur™ ile aşılanılardan 1'inci yıl sonunda alınan 10'ar adet toplam 412 serum örneğinde kuduz antikör seviyeleri geliştirdiğimiz Aşı Antijenli ELISA (AA-ELISA) yöntemi ile değerlendirilmiştir.

3.2. Aşı Antijenli ELISA (AA-ELISA):

3.2.1 Prensip:

Ok G.E.'nin çalışmasından (102) yola çıkarak serumda kuduz nötralizan antikörlerinin varlığının ve miktarının belirtimi için ELISA tekniği (103)

kullanılmıştır. Bu amaçla katı faz, inaktive kuduz virüsü içerdği bilinen HDCV (Merieux Inactivated Rabies Vaccine™, Pasteur-Merieux) ile kaplanmıştır. Serum örneklerinde bulunan kuduz nötralizan antikorları, enzim ile işaretli anti-antikor (konjugat) ile birlikte inkübe edilerek, birleşmeleri sağlanmıştır. Bağlanmamış konjugat yıkama işlemi ile uzaklaştırılmış, plaklar substrat çözeltisi ile enkübe edilmiştir. Bağlanan konjugat ve dolayısı ile serumda bulunan antikor miktarı ile doğru orantılı olarak, substratta renklenme izlenmiştir.

Substrat ilavesinden 30 dakika sonra absorbanslar spektrofotometrede 405 nm'de okunmuştur. Aynı koşullar altında işlem görmüş, antikor titrasyonları bilinen standartların absorbansları kullanılarak standart eğrisi çizilmiş, bilinmeyen örneklerin içerdği antikor konsantrasyonları, standart eğrisine göre değerlendirilerek, IU/ml olarak hesaplanmıştır.

3.2.2. Test İçin Kullanılan Gereçler:

- 37°C'lik etüv
- 405 nm'de okuma yapabilen spektrofotometre (ELx 808 Bio-Tek Instrument)
- Otomatik pipetler
- Distile su
- Yıkama yapma için su püskürtücü
- Standartların ve serumların dilüsyonu için steril cam tüpler
- Mikrotitrasyon plağı (Katı faz EIA testi için 96 çukurlu düz tabanlı polisitiren plaklar (PTT, Linbro, Nung, Greiner)
- Merieux Inactivated Rabies Vaccine™ (İnsan diploid hücre kültüründe üretilmiş kuduz aşısı(HDCV), Pasteur Merieux, Lyon, France)

- Rabivac™ (İnsan diploid hücre kültüründe üretilmiş kuduz aşısı (HDCV), Chiron Behring, Marburg, Germany)
- Rabipur™ (Primer civciv fibroblast hücre kültürlerinde üretilmiş kuduz aşısı (PCEC) Chiron Behring, Marburg, Germany)
- Verorab™ (Vero sürekli hücre kültüründe üretilmiş kuduz aşısı (PVRV) Pasteur Merieux, Lyon, France)
- Pozitif kontrol: İnsan kökenli anti-kuduz immun globulini (Imogam Rabies™, Pasteur Merieux, Lyon, France)
- Negatif kontrol: Aşısız çocuk serumu
- Konjugat: Keçi kaynaklı alkalen fosfataz enzimi ile işaretli anti insan IgG antiserumu (Sigma A-3150; Sigma Chemical Co., St. Louis, MO)
- Para nitrofenilfosfat (PNPP) (Merck)
- C₄H₁₁NO₂ (Dietanolamin) (Merck)
- Casein (Merck)
- Bovine Serum Albumin (BSA) (Lorne Lab. Ltd.)
- Tween 20 (Merck)

3.2.3. Kullanılan Solüsyonların Formülleri:

3.2.3.1. Antijen dilüsyon solüsyonu (Sodyum karbonat buffer):

Na ₂ CO ₃	1.59 gr
NaHCO ₃	2.94 gr
Distile su	1000 ml
PH	9.6

3.2.3.2. PBS (Phosphate Buffer Saline):

NaCl	17 gr
NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	0.44 gr
K ₂ HPO ₄	2.40 gr
Distile su	2000 ml
(pH=7.4'e ayarlanır)	

3.2.3.3. Yıkama ve serum dilüsyon solüsyonu (PBS+tween 20)

Tween 20	400 µl
PBS	1000 ml

3.2.3.4. Bloklama solüsyonu (% 3 BSA-PBS)

PBS	970 ml
BSA	30 ml
NaN ₃	0.2 gr

3.2.3.5. Bloklama Solüsyonu (Casein buffer)

Casein	10 gr
NaOH (0.1N)	200 ml
(=0.8gr NaOH + 200 ml distile su)	
PBS	1800 ml
Thimerosal (NaN ₃)	0.20 gr

3.2.3.6. Substrat Solüsyonu (Diethanolamine Buffer = DEAB)

$C_4H_{11}NO_2$ (Diethnolamine)	97 ml
$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	0.1 gr
NaN_3	0.2 gr
Distile su	800 ml
(pH=9.8)	

3.2.4. Yöntem ve Yöntemin Geliştirilmesi:

Aşılı bireylerin immünite derecelerinin araştırılmasına yönelik olarak insan serumunda anti-kuduz antikoriannın aranmasında kullanılan yöntem aşağıdaki basamaklardan oluşmaktadır:

3.2.4.1. Yöntemin geliştirilmesi: Testimizin en güvenilir şekilde çalışması için her bir basamakta teste etki edebilecek farklı bir faktörü irdeleyip, test için optimal antijen dilüsyonun, uygun plate'in, uygun serum diluyonunun ve uygun antijenin saptanmasına çalışıldı. Birinci basamakda antijen olarak Institut Merieux, Lyon, France tarafından üretilen HDCV aşısı kullanılmıştır. Steril liyofilize toz halindeki aşılar 1 ml'lik steril su eklenerek eritilmiştir. Optimal antijen dilüsyonunun saptanması amacı ile sıvı haldeki aşı, Sodyum karbonat buffer ile dilüe edilerek dört ayrı deney tüpünde sırası ile 1:50, 1:100, 1:200, 1:400'lük aşı sulandırılmaları elde edilmiştir. Antijenin bu dilüsyonlarından 96 çukurlu düz tabanlı değişik tür plaklara (Linbro, Greiner, TPP, Nung), her bir dilüsyon için üç dikey sütun olmak üzere, sırasıyla 100'er µl konmuştur. Antijenli plaklar bir gece

+4° C'da buzdolabında bekletilmiş, sabah dökülerek, iki kez PBS+tween-20 ile yıkanmıştır.

Daha sonra bloklama işlemi için tüm çukurlar Casein-PBS solüsyonu ile kaplanmış (150'şer µl), iki saat oda ısısında bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda plaklar dökümüş ve kurutma kağıdına ters konularak kısa bir süre beklenmiştir.

Pozitif kontrol serumu olarak, 150 IU/ml insan kökenli anti-kuduz immun globulini içerdiği bilinen Imogam Rabies, (Pasteur Merieux, Lyon, France) PBS-tween-20 ile 1:10 oranında sulandırılarak kullanılmıştır.

Negatif kontrol serumu olarak; daha önce kuduz aşısı uygulanmamış çocukların serum örnekleri kullanılmıştır.

Ayrı iki sulandırım plağında pozitif ve negatif kontrol serumları, her dilüsyonda çift çukur olmak üzere, sırası ile 1:32, 1:64, 1:128, 1:256, oranında dilüe edilmiştir. Serum dilüsyonları her birinde çift çukur olacak şekilde sıra ile 100'er µl antijen plağına aktarılmıştır. Antijen plağının üzeri kapatılarak 37° C'lık etüvde bir saat inkübe edilmiştir. Bu sürenin sonunda çukur içindekiler dökülerek PBS-tween-20 ile 3 kez 5'er dakika yıkanmıştır.

Konjugat; olarak keçi kaynaklı anti-human IgG-Alkale fosfatase konjugatı (Sigma Chemical Company, St. Louis, USA) kullanılmıştır. Konjugat PBS-tween-20 solüsyonu kullanılarak, üretici firmanın önerdiği şekilde 1:5,000 oranında dilüe edilmiştir. Her kuyucuğa 100'er µl konjugat dilüsyonu konmuş, 37° C'lık etüvde bir saat süreyle inkübe edilmiştir. Bu sürecin sonunda plak dökülerek PBS ile 3 kez 5'er dakika yıkanmıştır.

Her plak için DEAB solüsyonundan 10 ml alınmış, kullanmadan hemen önce içinde 10 mg *p*-nitro-phenyl phosphate (PNPP) eritilerek, substrat elde edilmiştir. Her kuyucuğa 100'er µl substrat solüsyonu konmuş, plak oda ısısında inkübasyona bırakılmıştır.

Plak 30. ve 60. dakikalarda mikro-ELISA okuyucusunda (ELx808 Bio-Tek instrument) 405 nm dalga boyunda okunmuş, elde edilen absorbans değerleri değerlendirilmiştir.

İkinci basamakta antijen dilüsyonu olarak 1:10, 1:20, 1:40 oranları kullanılmış, konjugat bu basamakta 1/7500 oranında sulandırılmış, antijen dilüsyon solüsyonu olarak sodyum karbonat buffer yerine PBS kullanılmıştır, her dilüsyondan dört dikey sütun kaplanarak yine değişik tür platelerde tekrar çalışılmıştır.

Üçüncü basamakta; Antijen olarak kullanılacak aşının türünün test sonucunu etkileyip etkilemeyeceği veya test sonucuna göre aşılardan etkinliğini karşılaştırırken antijen olarak kullandığımız aşının türünün bu değerlendirmeyi etkileyip etkilemeyeceğini araştırmak amaçlandı. Üç ayrı aşının (HDCV, PVRV, PCEC) her birinden ve bir de eşit orandaki karışımlarından 1:50'lik dilüsyonlar hazırlanıp her biri ile üç dikey sütun kaplandı aynı işlemler üç ayrı tür plate'de de yapıldı.

Dördüncü basamakta bloklama solüsyonu olarak Casein buffer ile % 3 BSA-PBS karşılaştırıldı., ayrıca konjugat dilüsyonunda PBS-tween20 yerine PBS kullanıldı

Her basamakta kaplanan plate'lerde değişik dilüsyonlarda pozitif serum, değişik dilüsyonlarda negatif serum, değişik dilüsyonlarda daha önce kuduz aşısı olduğu bilinen (herbiri farklı aşılarla aşılanmış) kişilerin serumu çalışılmıştır.

Farklı serum ve antijen dilüsyonlarında birçok kez tekrarlanan denemeler sonrasında, sonuç olarak; en iyi absorbans değerlerinin 1:50 antijen dilüsyonunda ve 1:32'lik serum dilüsyonunda elde edildiği gözlenmiş, hasta serumlarının araştırılmasında bu dilüsyonların kullanılmasına ve serumların dilüsyonlarının PBS-tween20 ile yapılmasına; Antijen olarak kullanılan aşı türünün sonucu etkilemediği görüldüğünden HDCV'nin antijen olarak kullanılmasına; Kullanılan plate'lerin kullanılan antijeni bağlama kapasiteleri

karşılaştırıldığında belirgin fark saptanmamış, diğerlerine göre minimal düzeyde bağlama kapasitesi fazla görülen TPP'nin kullanılmasına; Bloklama solüsyonu olarak ise % 3 BSA-PBS kullanılmasına; Konjugat dilüsyonunun PBS ile 1/5000 oranında yapılmasına; Absorbans değerlerinin 405 nm dalga boyunda, 30'uncu dakikada okutulmasına karar verilmiştir.

3.2.4.2. Yöntemin uygulanması: Antijenin sodyum karbonat buffer ile 1:50'lik dilüsyonu hazırlanıp bu dilüsyon ile önceden kaplanarak bir gece buzdolabında bekletilen ELISA plakları iki kez PBS+tween20 ile yıkanıp, +4 °C'da buzdolabında bekletilmiştir. Test çalışılacağına, önce ELISA plağı üzerinde negatif serumların, boş deliklerin, standartların ve hasta serumlarının hangi çukurlara konacağı tasarlanmış, sonuçta her plakta her biri çift çukura konmak üzere 2 negatif kontrol serumu, 10 standart ve 35 hasta serumu kullanılmasına ve 2 çukurun sulandırım solüsyonunun kontrolü amacı ile boş (blank) kalmasına karar verilmiş, her ELISA plağı Şekil 3.1'de gösterilen biçimde düzenlenmiştir.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Blank	S 2	S 6	S 10	H 4	H 8	H 12	H 16	H 20	H 24	H 28	H 32
B	Blank	S 2	S 6	S 10	H 4	H 8	H 12	H 16	H 20	H 24	H 28	H 32
C	N*1	S 3	S 7	H [#] 1	H 5	H 9	H 13	H 17	H 21	H 25	H 29	H 33
D	N 1	S 3	S 7	H 1	H 5	H 9	H 13	H 17	H 21	H 25	H 29	H 33
E	N 2	S 4	S 8	H 2	H 6	H 10	H 14	H 18	H 22	H 26	H 30	H 34
F	N 2	S 4	S 8	H 2	H 6	H 10	H 14	H 18	H 22	H 26	H 30	H 34
G	S 1	S 5	S 9	H 3	H 7	H 11	H 15	H 19	H 23	H 27	H 31	H 35
H	S [#] 1	S 5	S 9	H 3	H 7	H 11	H 15	H 19	H 23	H 27	H 31	H 35

Şekil 3.1: AA-ELISA Yönteminde Kullanılan ELISA Plaklarının Düzeni
 *=Negatif Kontrol Serumu #=Standart (Pozitif Kontrol) [^]=Hasta Serumu

ELISA plaklarının tüm çukurları bloklama işlemi için % 3 BSA-PBS solüsyonu ile kaplanmış, iki saat oda ısısında bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda plaklar dökülmüş ve 3 kez 5'er dakika boyunca PBS ile yıkanmıştır. İki saatlik bekleme sırasında, sulandırım plak ve tüplerinde negatif kontrol ve hasta serumlarının PBS+tween20 ile 1:32'lik dilüsyonları hazırlanmıştır. Standartlar hazırlanırken, 150 IU/ml insan kökenli anti-kuduz immun globulini içerdiği bilinen Imogam Rabies (Pasteur Merieux, Lyon, France) PBS+tween20 ile 1:150 oranında sulandırılarak 1 IU/ml'lik bir solüsyon elde edilmiştir. Bu solüsyonun bir kısmı Standart 1 (S1) olarak kullanmak üzere ayrılmış, kalanından her defasında ikişer kat sulandırarak S2, S3,....., S10 elde edilmiştir; böylece S2'de 0.5 IU/ml, S3'te 0.25 IU/ml ve daha sonraki standartlarda ikişer kat azalan miktarda antikor dilüsyonları elde edilmiştir. Sulandırmaları önceden hazırlanmış negatif kontrol ve hasta serumları ile standartlar, bloklama ve yıkama işlemleri tamamlanmış ELISA plaklarına, aynı anda ve Şekil 3.1'deki düzende aktarılmış; boş (blank) çukurlara PBS+tween20 konmuştur. Antikor içeriği 1 IU/ml olan S1, sulandırım yapılmaksızın aktarıldığından plaktaki çukurlara 32 kat sulandırılarak konan 1 IU/ml antikor içeren bir hasta serumuna oranla 32 kat daha fazla anti-kuduz antikorunu içermektedir. Bu nedenle S1 32 IU/ml, S2 16 IU/ml,....., S10 ise 0.062 IU/ml olarak hesaplanmış, hasta serumları bu standartlarla karşılaştırılarak değerlendirilmiştir (Şekil 3.2).

	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
IU/ml	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.12	0.06

Şekil 3.2: Standart Serumların IU/ml Olarak Değerleri

Standart ve serumları içeren ELISA plağına inkübasyon, yıkama, konjugat ve substrat aşamaları yukarıda anlatıldığı biçimde uygulanmış, mikro-ELISA okuyucusu yardımı ile elde edilen absorbans değerleri bilgisayara yüklenmiştir. Boş çukurların ve standartların absorbans değerlerinden yararlanılarak, bilgisayar aracılığı ile standart eğrileri çıkarılmış, hasta serumlarının içerdikleri antikor titreleri IU/ml olarak elde edilmiştir.

3.3. İstatistiksel Değerlendirme:

Verilerin istatistiksel değerlendirilmesi Windows-98 işletim sistemi ortamında çalışan SPSS 7.0 istatistik paket programında yer alan T testi uygulanmıştır.

4. BULGULAR

İzmir Konak Kuduz Tedavi Merkezi'ne başvurarak değişik kuduz aşılarıyla profilaksiye başlanan kuşkulu ısırık olgularından çalışma kapsamına alınan hastaların serum örneklerinin alınan güne ve uygulanan aşı türüne göre gruplar oluşturulmuştur (Çizelge 4.1). Çalışmamızda 4 ayrı aşı kullanılmış, bu aşılar alfabetik harflerle "A aşısı, B aşısı, C aşısı ve D aşısı" olarak adlandırılmıştır (Çizelge 4.2). A aşısı ile aşılama programına alınan kişilerden 30. günde alınan serum örnekleri "A1 grubu", 90. günde alınanlar "A2 grubu" ve 1 yıl sonra alınan serum örnekleri ise "A3 grubu" adı altında toplanmıştır. Aynı şekilde B, C ve D aşıları ile aşılananlardan 30'uncu, 90'uncü günlerde ve 1 yıl sonra toplanan serum örnekleri de B1, B2, B3, C1, C2, D1, D2 ve D3 grubu olarak sınıflandırılmıştır, C aşısı ile aşılananlardan 1 yıl sonra alınan serum (C3 grubu) olmamıştır.

Çizelge 4.1: Hasta gruplarının özellikleri

	Uygulanan Aşı	Serumun alındığı gün	Uygulanan aşı sayısı	Serum sayısı
A1 Grubu	Merieux Inactivated Rabies Vaccine TM (HDCV)	30. gün	4	46
B1 Grubu	Rabipur TM (PCEC)	30. gün	4	46
C1 Grubu	Verorab TM (PVRV)	30. gün	4	46
D1 Grubu	Rabivac TM (HDCV)	30. gün	4	46
A2 Grubu	Merieux Inactivated Rabies Vaccine TM (HDCV)	90. gün	5	46
B2 Grubu	Rabipur TM (PCEC)	90. gün	5	46
C2 Grubu	Verorab TM (PVRV)	90. gün	5	46
D2 Grubu	Rabivac TM (HDCV)	90. gün	5	46
A3 Grubu	Merieux Inactivated Rabies Vaccine TM (HDCV)	1. yıl	6	24
B3 Grubu	Rabipur TM (PCEC)	1. yıl	6	10
D3 Grubu	Rabivac TM (HDCV)	1. yıl	6	10

Çizelge 4.2: Çalışmada kullanılan aşuların özellikleri.

	Aktif madde	İçerik	Aşının ticari adı	Üretici firma
A aşısı	HDCV (Human Diploid Cell Vaccine)	İnsan diploid hücre kültürlerinde üretilmiş Wistar PM/MI 38-1503-3M suşu inaktive kuduz virüsü	Merieux Inactivated Rabies Vaccine™	Pasteur Merieux, Lyon-France
B aşısı	PCEC (Purified Chick Embryo Cell Vaccine)	Primer tavuk fibroblast hücre kültürlerinde üretilmiş inaktive kuduz virüsü (Flury LEP suşu)	Rabipur™	Chiron Behring Marburg-Germany
C aşısı	PVRV (Purified Vero Cell Rabies Vaccine)	Vero sürekli hücre kültürlerinde üretilmiş Wistar PM/MI 38-1503-3M suşu inaktive kuduz virüsü	Verorab™	Pasteur Merieux, Lyon-France
D aşısı	HDCV (Human Diploid Cell Vaccine)	İnsan diploid hücre kültürlerinde üretilmiş Pitman Moore suşu inaktive kuduz virüsü	Rabivac™	Chiron Behring Marburg- Germany

Toplam 412 serum örneği bu 11 grup altında incelemeye alınmış elde edilen sonuçlar gruplar halinde ve genel olarak karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Serum örneklerinin tümünde kuduz antikorlarının seviyesi ölçülürken kuduz aşısının antijen olarak kullanıldığı mikro-ELISA yöntemi kullanılmıştır. Pozitivite sınırı 0,5 IU/ml olarak alınmış bu sınırın altındaki değerler negatif kabul edilmiştir. Çizelge 4.3, 4.4 ve 4.5'te tüm sonuçlar toplu olarak izlenmektedir.

Çizelge 4.3: 30'uncu günde alınan serumların anti-kuduz nötralizan antikor seviyeleri toplu sonuçları.

No	A1 GRUBU		B1 GRUBU		C1 GRUBU		D1 GRUBU	
	Yaş/ Cins	Ab seviyesi IU/ml	Yaş/ Cins	Ab seviyesi IU/ml	Yaş/ Cins	Ab seviyesi IU/ml	Yaş/ Cins	Ab seviyesi IU/ml
1.	61/K	4,60	9/E	7,38	52/E	2,67	34/E	3,41
2.	50/E	2,68	15/E	9,89	16/E	1,81	54/K	5,25
3.	19/K	1,98	17/E	5,63	15/E	3,87	28/E	3,84
4.	71/E	26,10	29/E	8,31	5/E	4,72	49/E	1,82
5.	16/K	4,11	20/E	2,67	31/K	2,69	70/E	8,26
6.	64/E	2,23	19/E	2,04	65/K	2,55	6/E	4,59
7.	30/K	3,41	58/E	1,50	37/E	1,60	15/E	7,23
8.	14/K	4,89	47/K	1,82	29/K	2,09	28/E	1,40
9.	14/E	1,09	16/E	2,13	13/E	2,35	40/K	2,89
10.	18/E	3,01	58/E	3,24	61/K	1,15	11/E	8,09
11.	77/E	3,87	12/K	6,11	35/E	1,27	70/K	9,35
12.	4/K	1,00	11/K	5,20	12/K	1,83	37/E	19,00
13.	71/E	7,90	38/K	4,28	11/E	3,90	16/K	8,71
14.	28/E	1,30	14/E	5,57	44/E	3,49	41/E	19,50
15.	12/E	7,02	45/E	2,54	54/K	9,91	7/E	6,67
16.	24/E	9,40	28/E	2,04	10/E	0,84	80/E	2,91
17.	3/E	1,10	8/E	10,10	7/E	3,86	49/E	4,25
18.	11/K	4,47	25/E	1,29	30/E	4,35	43/E	3,95
19.	47/E	5,55	19/E	3,14	14/K	3,99	16/E	4,18
20.	5/E	3,20	12/E	3,80	3/K	5,36	99/E	2,26
21.	12/E	4,69	17/E	1,92	43/E	1,53	4/E	0,74
22.	50/K	8,75	32/E	2,15	17/E	9,84	47/E	5,62
23.	48/K	13,20	42/E	0,86	37/K	5,20	12/E	4,29
24.	54/E	1,66	5/E	3,65	15/E	2,18	34/E	3,17
25.	12/E	1,18	16/E	1,42	15/E	1,36	8/K	11,90
26.	11/E	6,63	43/K	3,32	11/K	2,91	47/E	1,78
27.	27/K	5,39	26/E	4,25	82/K	0,71	12/E	3,79
28.	18/E	0,46	50/K	8,06	71/K	1,99	70/E	6,82
29.	5/E	0,97	27/E	2,15	17/E	0,87	17/K	12,00
30.	49/E	20,40	10/E	3,64	11/E	3,78	28/E	4,69
31.	3/E	11,70	77/E	5,95	9/E	1,42	8/E	0,83
32.	13/K	2,39	51/E	7,64	16/E	3,77	18/K	2,18
33.	13/K	1,47	43/E	3,08	60/E	3,91	12/E	2,48
34.	66/E	5,63	30/K	3,20	51/E	3,80	26/K	4,83
35.	42/K	14,20	72/E	1,64	14/E	2,37	74/E	9,15
36.	23/E	4,42	44/K	2,54	14/E	1,15	23/E	0,64
37.	13/K	1,44	12/K	1,99	13/E	4,92	33/E	1,53
38.	50/E	0,99	16/K	2,56	23/E	9,47	28/K	2,14
39.	52/E	5,00	33/E	5,09	48/K	5,48	12/E	1,17
40.	7/E	0,71	20/E	3,09	51/E	2,12	10/E	0,81
41.	37/E	0,59	24/K	1,91	11/K	5,32	24/E	0,78
42.	19/E	1,01	11/E	2,41	13/E	3,24	14/K	2,61
43.	70/E	1,93	19/K	6,77	38/K	1,76	59/E	2,85
44.	12/E	2,15	55/E	1,09	17/E	6,88	30/E	0,53
45.	11/E	0,63	23/K	2,30	16/E	1,84	23/K	1,60
46.	53/E	8,86	22/K	2,52	38/E	4,53	5/E	0,88

Çizelge 4.4: 90'inci günde alınan serumların anti-kuduz nötralizan antikor seviyeleri toplu sonuçları.

No	A2 GRUBU		B2 GRUBU		C2 GRUBU		D2 GRUBU	
	Yaş/ Cins	Ab seviyesi IU/ml	Yaş/ Cins	Ab seviyesi IU/ml	Yaş/ Cins	Ab seviyesi IU/ml	Yaş/ Cins	Ab seviyesi IU/ml
1	11/E	4,54	12/E	1,19	18/E	0,91	16/E	1,22
2	8/E	3,17	23/E	2,91	13/E	4,82	7/E	15,55
3	21/E	10,00	11/E	1,08	62/E	44,70	8/K	7,57
4	49/E	9,41	12/E	2,38	32/K	12,10	5/E	1,00
5	68/K	1,50	8/E	0,82	60/K	16,40	70/K	3,78
6	12/E	5,88	14/E	1,69	18/K	4,25	37/K	2,06
7	50/K	12,00	16/E	2,24	27/E	3,84	15/E	2,35
8	11/K	2,65	32/E	1,06	80/E	2,11	15/E	9,95
9	24/E	9,32	14/E	4,94	65/K	2,86	10/E	0,19
10	11/K	3,18	14/E	1,30	3/K	1,04	12/E	2,46
11	9/E	2,99	40/E	17,70	24/E	27,70	71/E	13,30
12	6/K	0,61	17/E	4,73	38/K	5,30	9/K	1,32
13	37/E	2,37	54/E	0,99	3/K	0,15	43/E	11,89
14	12/E	3,90	37/K	22,50	10/E	1,88	4/E	1,69
15	14/E	1,51	25/K	7,41	32/K	16,20	40/K	1,05
16	8/E	3,73	11/K	4,29	31/K	4,30	34/E	1,43
17	17/E	3,50	44/K	6,49	50/K	10,60	40/E	14,37
18	9/E	1,12	26/E	1,89	16/K	3,86	47/E	0,95
19	20/E	4,33	58/K	3,83	14/K	1,08	11/E	13,67
20	15/E	1,50	29/E	12,10	17/K	4,74	42/E	8,90
21	46/E	10,60	14/E	2,21	10/E	0,30	23/E	2,27
22	10/E	2,39	17/K	9,43	38/E	5,73	41/E	7,63
23	3/E	5,16	32/E	1,10	19/K	5,66	12/E	1,78
24	60/K	4,34	10/E	1,52	13/K	1,27	5/E	0,41
25	27/K	5,64	19/E	13,80	17/K	1,87	42/K	6,03
26	7/E	0,70	27/E	8,38	11/K	10,20	17/E	10,42
27	50/E	6,17	9/E	0,68	44/E	21,50	74/E	16,55
28	65/E	4,38	15/E	3,24	16/K	6,02	70/K	8,19
29	30/E	3,39	4/K	5,76	6/E	4,64	72/E	20,41
30	44/K	1,93	11/K	9,21	35/E	1,21	18/E	5,53
31	38/K	6,17	72/E	7,73	16/E	0,69	35/E	11,00
32	48/E	11,00	23/E	17,10	5/E	0,74	23/E	6,20
33	41/E	4,18	12/K	25,20	60/K	12,30	45/E	5,44
34	25/K	8,63	23/K	10,80	7/K	0,62	28/K	0,68
35	75/E	3,92	22/K	4,39	13/E	2,04	10/E	0,97
36	61/E	4,26	24/K	5,06	39/K	3,51	34/E	0,69
37	13/E	6,49	50/K	12,78	16/K	4,12	20/E	1,96
38	49/E	8,24	8/E	3,73	59/E	3,25	24/E	0,81
39	12/E	9,39	37/E	10,43	44/E	3,30	54/E	2,91
40	9/E	5,32	43/K	3,88	35/E	4,62	28/E	0,53
41	25/E	37,80	8/E	4,52	51/E	2,96	4/K	0,51
42	52/E	3,96	19/E	5,84	13/E	9,55	28/K	0,58
43	22/K	4,27	26/K	9,43	40/E	9,22	23/E	0,21
44	12/K	4,60	35/K	3,01	19/E	1,13	24/E	0,59
45	27/E	11,83	19/E	5,37	14/K	3,25	28/E	0,50
46	41/E	9,56	58/E	1,51	38/K	4,45	49/E	0,42

Çizelge 4.5: 1 yıl sonra toplanan serumların anti-kuduz nötralizan antikor seviyeleri toplu sonuçları.

No	A3 GRUBU		B3 GRUBU		D3 GRUBU	
	Yaş/ Cins	Ab seviyesi IU/ml	Yaş/ Cins	Ab seviyesi IU/ml	Yaş/ Cins	Ab seviyesi IU/ml
1	10/E	7.05	15/E	14.20	9/K	3.17
2	52/E	14.49	72/E	2.35	17/E	1.82
3	60/K	2.09	9/E	7.16	41/K	3.04
4	14/E	7.78	17/E	4.26	11/E	15.54
5	11/K	3.80	38/E	6.86	43/E	3.77
6	68/K	6.61	43/E	2.53	10/K	2.76
7	12/E	7.65	9/E	4.61	72/E	7.80
8	16/K	2.57	5/E	1.62	40/K	4.70
9	54/E	1.40	50/E	3.96	53/E	2.31
10	5/K	7.11	35/E	0.86	15/E	1.33
11	37/E	5.17				
12	13/E	3.93				
13	42/K	9.14				
14	43/E	19.36				
15	12/K	8.99				
16	11/K	6.56				
17	14/E	12.60				
18	33/E	9.37				
19	28/E	7.89				
20	42/E	8.59				
21	57/K	10.41				
22	48/K	14.39				
23	39/K	7.69				
24	23/E	5.79				

4.1. Grup Özelliklerine Göre Sonuçlar:

4.1.1. A1 Grubu Sonuçları:

A aşısı (Merieux Inactivated Rabies Vaccine™-HDCV) ile 0, 3, 7 ve 14'üncü günlerde birer doz olmak üzere toplam 4 doz aşı uygulanan, yaşları 3-77 arası (AO: 31), 32 erkek ve 14 kadın 46 bireyden 30'uncu günde alınan 46 serum örneğinin test edilmesi sonucunda yalnızca 1'inde (%2.2) koruyucu düzeyde antikor saptanamazken (0.46 IU/ml), 45'inde (%97.8) antikor titreleri koruyucu düzey olan 0.5 IU/ml'nin üzerinde bulunmuştur. Serumların antikor titrelerinin aritmetik ortalaması (AO) 4.90 IU/ml (titre aralığı: 0.46-26.10 IU/ml) olarak saptanmıştır (Çizelge 4.6).

4.1.2. B1 Grubu Sonuçları:

B aşısı (Rabipur™ -PCEC) ile 0, 3, 7 ve 14'üncü günlerde birer doz olmak üzere toplam 4 doz aşı uygulanan, yaşları 5-77 arası (AO: 29), 32 erkek ve 14 kadın 46 bireyden 30'uncu günde alınan 46 serum örneğinin tümünde (%100) antikor koruyucu düzeyin üzerinde saptanmış, antikor titrelerinin AO'sı 3.78 IU/ml (titre aralığı: 0.86-10.10 IU/ml) bulunmuştur (Çizelge 4.6).

4.1.3. C1 Grubu Sonuçları:

0, 3, 7 ve 14'üncü günlerde birer doz toplam 4 doz C aşısı (Verorab™-PVRV) uygulanmış, 3-82 yaşları arasında (AO: 28), 31'i erkek ve 15'i kadın olan bireylerden 30'uncu günde toplanan 46 serum örneğinin test edilmesi sonucunda tümünde (%100) koruyucu düzeyi üzerinde antikor saptanmıştır.

Antikor titrelerinin AO'sı 3.41 IU/ml, titre aralığının 0.71-9.91 IU/ml olduğu görülmüştür (Çizelge 4.6).

4.1.4. D1 Grubu Sonuçları:

0, 3, 7 ve 14'üncü günlerde birer doz toplam 4 doz D aşısı (Rabivac™-HDCV) uygulanmış, 35 erkek ve 11 kadın, 4-99 (AO:32) yaşlarındaki bireylerden 30'uncu günde alınan 46 serum örneğinin test sonuçlarında tüm serumlarda (%100) koruyucu düzeyin üzerinde antikor olduğu görülmüş ve antikor titrelerinin AO'sı 4.73 IU/ml (titre aralığının 0.53-19.50 IU/ml) saptanmıştır (Çizelge 4.6).

4.1.5. A2 Grubu Sonuçları:

A aşısı ile 0, 3, 7, 14 ve 30'uncu günlerde birer doz olmak üzere toplam 5 doz aşı uygulanan, yaşları 3-68 arası (AO: 28), 34 erkek ve 12 kadın 46 bireyden 90'uncu günde alınan 46 serum örneğinin test edilmesi sonucunda tümünde antikor titreleri koruyucu düzeyin üzerinde bulunmuştur. Serumların antikor titrelerinin AO'sı 5.90 IU/ml (titre aralığı: 0.61-37.80 IU/ml) olarak saptanmıştır (Çizelge 4.6).

4.1.6. B2 Grubu Sonuçları:

B aşısı ile 0, 3, 7, 14 ve 30'uncu günlerde birer doz olmak üzere toplam 5 doz aşı uygulanan, yaşları 4-72 arası (AO: 25), 30 erkek ve 16 kadın 46 bireyden 90'uncu günde alınan 46 serum örneğinin tümünde (%100) antikor koruyucu düzeyin üzerinde saptanmış, antikor titrelerinin AO'sı 6.25IU/ml (titre aralığı: 0.68-25.20 IU/ml) bulunmuştur (Çizelge 4.6).

4.1.7. C2 Grubu Sonuçları:

0, 3, 7, 14 ve 30'uncu günlerde birer doz, toplam 5 doz C aşısı uygulanmış, 3-80 yaşları arasında (AO: 28), 22'si erkek ve 24'ü kadın olan bireylerden 90'uncu günde toplanan 46 serum örneğinin test edilmesi sonucunda 2'sinde (%4.3) koruyucu düzeyde antikor saptanamazken (0.15 ve 0.30 IU/ml), 44'ünde (%95.7) koruyucu düzeyin üzerinde antikor saptanmıştır. Antikor titrelerinin AO'sı 6.37 IU/ml, titre aralığının 0.15-44.70 IU/ml olduğu görülmüştür (Çizelge 4.6).

4.1.8. D2 Grubu Sonuçları:

0, 3, 7, 14 ve 30'uncu günlerde birer doz, toplam 5 doz D aşısı uygulanmış, 36 erkek ve 10 kadın, 4-99 (AO:32) yaşlarındaki bireylerden 90'uncu günde alınan 46 serum örneğinin test sonuçlarında 3 (%6.5) serumda koruyucu düzeyin altında antikor olduğu, (0.19, 0.21 ve 0.42 IU/ml) 43 (%93.5) serumda ise koruyucu düzeyin üzerinde antikor olduğu görülmüştür. Antikor titrelerinin AO'sı 4.95 IU/ml (titre aralığının 0.19-15.55 IU/ml) saptanmıştır (Çizelge 4.6).

4.1.9. A3 Grubu Sonuçları:

A aşısı ile 0, 3, 7,14, 30 ve 90'uncu günlerde birer doz olmak üzere toplam 6 doz aşı uygulanan, yaşları 5-68 arası (AO: 31), 13 erkek ve 11 kadın 24 bireyden ilk doz aşidan 1 yıl sonra alınan 24 serum örneğinin test edilmesi sonucunda tümünde (%100) antikor titreleri koruyucu düzeyin üzerinde bulunmuştur. Serumların antikor titrelerinin AO'sı 7.93 IU/ml (titre aralığı: 1.40-19.36 IU/ml) olarak saptanmıştır (Çizelge 4.6).

4.1.10. B3 Grubu Sonuçları:

B aşısı ile 0, 3, 7,14, 30 ve 90'uncu günlerde birer doz olmak üzere toplam 6 doz aşı uygulanan, yaşları 5-72 arası (AO: 29), 10 erkek bireyden 1 yıl sonra alınan 10 serum örneğinin tümünde (%100) antikor koruyucu düzeyin üzerinde saptanmış, antikor titrelerinin AO'sı 4.94 IU/ml (titre aralığı: 0.86-14.20 IU/ml) bulunmuştur (Çizelge 4.6).

4.1.11. D3 Grubu Sonuçları:

0, 3, 7,14, 30 ve 90'uncu günlerde birer doz toplam 6 doz D aşısı uygulanmış, 6 erkek ve 4 kadın, 9-72 (AO:32) yaşlarındaki bireylerden 1 yıl sonra alınan 10 serum örneğinin test sonuçlarında tüm serumlarda (%100) koruyucu düzeyin üzerinde antikor olduğu görülmüş ve antikor titrelerinin AO'sı 4.62 IU/ml (titre aralığının 1.33-15.54 IU/ml) saptanmıştır (Çizelge 4.6).

4.2. Gruplar Arasında Karşılaştırmalı Sonuçlar:

4.2.1. A aşısı ve D aşısı ile aşılananların karşılaştırılması:

Hem A aşısı hem de D aşısı HDCV aşılarıdır (Çizelge 4.1). Bu aşılarla aşılanan bireylerden alınan bireylerin test sonuçları karşılaştırılmış:

A aşısı ile aşılanmış 3-77 (A.O:30) yaşları arasında, 79'u erkek, 37'si kadın 116 bireyden alınmış serumların yapılan incelemesinde yalnızca 1'inde (%0.9) koruyucu düzeyde antikor saptanamazken 115'inin (%99.1) antikor titreleri koruyucu düzeyin üzerinde bulunmuştur. Bu serumların antikor titrelerinin aritmetik ortalaması 5.92 IU/ml ve titre aralığı 0.46-37.80 IU/ml olarak saptanmıştır (Çizelge 4.7).

D aşısı ile aşılanmış 77 erkek, 25 kadın, 4-99 (A.O:31) yaşlarında 102 bireyden toplanan serumlardan 3'ünde (%2.9) koruyucu düzeyde antikor bulunamamış, 99'unda (%97.1) koruyucu düzeyin üzerinde antikor titresi saptanmıştır. Bu grupta antikor titrelerinin aritmetik ortalaması ise 4.82 IU/ml (titre aralığı: 0.19-19.50 IU/ml) olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.7).

4.2.2. A, B ve C aşısı ile aşılananların karşılaştırılması:

A, B ve C aşıları üç farklı hücre kültürü aşılardır. Bu aşılarla aşılanan bireylerden alınan serum örneklerinin test sonuçları karşılaştırıldığında:

A aşısı ile aşılanmış bireylerden 30'uncu günde alınan 46 serumun 1'inde koruyucu düzeyde antikor olmadığı, 45'inde (%97.8) koruyucu düzeyin üzerinde antikor olduğu saptanmış. Bu serumların antikor titrelerinin aritmetik ortalaması 4.90IU/ml (titre aralığı: 0.46-26.10 IU/ml) bulunmuştur. B ve C aşısı ile aşılanan bireylerden 30'uncu günde toplanan 46'şar serumun tümünde (%100) koruyucu düzey üzerinde antikor saptanmış, Antikor titrelerinin aritmetik ortalamasının ise sırası ile 3.78 IU/ml (titre aralığı:0.86-10.10 IU/ml), 3.41 IU/ml (titre aralığı: 0.71-9.91) olduğu görülmüştür. (Çizelge 4.8)

90'uncu günde toplanan 46'şar serumdan A ve B aşıları ile aşılanmış kişilere ait olanların tümünde (%100) koruyucu düzeyin üzerinde antikor saptanmış, C aşısı ile aşılananlara ait olanlardan ise 2'sinde (%4.3) koruyucu düzeyde antikor olmadığı, 44'ünde (%95.7) koruyucu düzeyin üzerinde antikor olduğu saptanmış. Bu serumların antikor titrelerinin aritmetik ortalaması sırası ile 5.90 IU/ml (titre aralığı:0.61-37.80 IU/ml), 6.25 IU/ml (titre aralığı: 0.68-25.20) ve 6.37 IU/ml (0.15-44.70) olduğu görülmüştür (Çizelge 4.8).

Hem 30'uncu hem de 90'uncu günlerde alınan serumları topluca değerlendirdiğimize; A aşısı ile aşılanmış 66'sı erkek 26'sı kadın, 3-77 (A.O:29) yaşlarında 92 bireyin 91'inde (%98.9), B aşısı ile aşılanmış 62'si erkek ve 30'u kadın, 4-77 (A.O:27) yaşlarında 92 bireyin tümünde (%100), C aşısı ile aşılanmış 53 erkek 39 kadın ,3-82 (A.O:28) yaşlarında 92 bireyin ise 90'ında

(%97.8) koruyucu düzeyin üzerinde antikor saptanmıştır. Antikor titrelerinin aritmetik ortalaması sırası ile 5.40 IU/ml (titre aralığı: 0.46-37.80 IU/ml), 5.02 IU/ml (titre aralığı: 0.68-25.20 IU/ml) ve 4.89 IU/ml (titre aralığı: 0.15-44.70 IU/ml) bulunmuştur (Çizelge 4.8).

A ve B aşılı ile aşılanan bireylerden alınan tüm serumlar karşılaştırıldığında (30. gün, 90. Gün ve 1 yıl sonra ki); A aşısı ile aşılanmış 3-77 (A.O:30) yaşları arasında, 79'u erkek, 37'si kadın 116 bireyden 115'inin (%99.1) antikor titreleri koruyucu düzeyin üzerinde bulunmuşken, B aşısı ile aşılanmış 4-77 (A.O:) yaşlarında 72'si erkek 30'u kadın 102 bireyin tümünde koruyucu düzeyin üzerinde antikor saptanmıştır. Bu serumların antikor titrelerinin aritmetik ortalaması sırası ile 5.92 IU/ml (titre aralığı: 0.46-37.80 IU/ml) ve 5.01 IU/ml (titre aralığı: 0.68-25.20 IU/ml) olarak saptanmıştır (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.6: Serum antikor seviyelerinin gruplara göre karşılaştırmalı değerlendirilmesi

Grup	Serum sayısı (n)	Aritmetik Ortalama (IU/ml)	Titre Aralığı (IU/ml)	Bağışık Serum Sayısı	Bağışık Olmayan Serum Sayısı
A1	46	4.90	0.46-26.10	45 (%97.8)	1 (%2.2)
B1	46	3.78	0.86-10.10	46 (%100)	0 (%0)
C1	46	3.41	0.71-9.91	46 (%100)	0 (%0)
D1	46	4.73	0.53-19.50	46 (%100)	0 (%0)
A2	46	5.90	0.61-37.80	46 (%100)	0 (%0)
B2	46	6.25	0.68-25.20	46 (%100)	0 (%0)
C2	46	6.37	0.15-44.70	44 (%95.7)	2 (%4.3)
D2	46	4.95	0.19-15.55	43 (%93.5)	3 (%6.5)
A3	24	7.93	1.40-19.36	24 (%100)	0 (%0)
B3	10	4.94	0.86-14.20	10 (%100)	0 (%0)
D3	10	4.62	1.33-15.54	10 (%100)	0 (%0)
Toplam	412		0.15-44.70	406 (%98.5)	6 (%1.5)

Çizelge 4.7: HDCV içeren iki ayrı aşı (A ve D) ile aşılananlardaki serum seviyelerini karşılaştırmalı değerlendirilmesi

Grup	Serum sayısı (n)	Aritmetik Ortalama (IU/ml)	Titre Aralığı (IU/ml)	Bağışık Serum Sayısı	Bağışık Olmayan Serum Sayısı
A1	46	4.90	0.46-26.10	45 (%97.8)	1 (%2.2)
D1	46	4.73	0.53-19.50	46 (%100)	0 (%0)
A2	46	5.90	0.61-37.80	46 (%100)	0 (%0)
D2	46	4.95	0.19-15.55	43 (%93.5)	3 (%6.5)
A3	24	7.93	1.40-19.36	24 (%100)	0 (%0)
D3	10	4.62	1.33-15.54	10 (%100)	0 (%0)
A1+A2	92	5.40	0.46-37.80	91 (%98.9)	1 (%1.1)
D1+D2	92	4.84	0.19-19.50	89 (%96.7)	3 (%3.3)
A1+A2+A3	116	5.92	0.46-37.80	115 (%99.1)	1 (%0.9)
D1+D2+D3	102	4.82	0.19-19.50	99 (%97.1)	3 (%2.9)
Toplam	218	5.41	0.19-37.80	214 (%98.2)	4 (%1.8)

Çizelge 4.8: HDCV, PCEC ve PVRV içeren üç ayrı aşı (A, B ve C) ile aşılananlardaki serum seviyelerini karşılaştırmalı değerlendirilmesi

Grup	Serum sayısı (n)	Aritmetik Ortalama (IU/ml)	Titre Aralığı (IU/ml)	Bağışık Serum Sayısı	Bağışık Olmayan Serum Sayısı
A1	46	4.90	0.46-26.10	45 (%97.8)	1 (%2.2)
B1	46	3.78	0.86-10.10	46 (%100)	0 (%0)
C1	46	3.41	0.71-9.91	46 (%100)	0 (%0)
A2	46	5.90	0.61-37.80	46 (%100)	0 (%0)
B2	46	6.25	0.68-25.20	46 (%100)	0 (%0)
C2	46	6.37	0.15-44.70	44 (%95.7)	2 (%4.3)
A1+A2	92	5.40	0.46-37.80	91 (%98.9)	1 (%1.1)
B1+B2	92	5.02	0.68-25.20	92 (%100)	0 (%0)
C1+C2	92	4.89	0.15-44.70	90 (%97.8)	2 (%2.2)
A3	24	7.93	1.40-19.36	24 (%100)	0 (%0)
B3	10	4.94	0.86-14.20	10 (%100)	0 (%0)
A1+A2+A3	116	5.92	0.46-37.80	115 (%99.1)	1 (%0.9)
B1+B2+B3	102	5.01	0.68-25.20	102 (%100)	0 (%0)

5. TARTIŞMA

Coğrafik izolasyon, hayvan kontrol programları ve karantina uygulamaları sonucunda yaklaşık 60 ülkede artık kuduz olgusu bildirilmemekle birlikte D.S.Ö.'nün tahminlerine göre her yıl 30.000'nin üzerinde insan kuduzla yakalanıp ölmekte, yaklaşık 4 milyon insan da kuduz şüpheli temas sonucu tedavi görmektedir. Kuduz virüsünün vahşi yaşamdaki rezervuarları nedeni ile, bugün kuduz yalnızca geri kalmış ve gelişmekte olan ülkelerde değil, gelişmiş ülkelerde de önemli bir sorun olmayı sürdürmektedir. (1-3). Aynı durum ülkemiz içinde söz konusudur.

Ülkemizde 1970-1997 yılları arasında 583 kuduz olgusu bildirilmiştir. Diğer gelişmekte olan ülkelerde olduğu gibi Türkiye'de de en çok köpek ısırması sonucu kuduz gelişmektedir. 1980-1997 yılları arasındaki dönemde görülen 221 olgunun 173'ü köpek, 6'sı kurt, 1'i kedi, 1'i tilki ve 1'i eşek ısırması sonucu meydana gelmiş, 39'ünde kaynak belirlenememiştir (5, 13, 26-28). Bu verilere göre; ülkemizde kaynağı belirlenmiş kuduz olgularının %96,2'sinin evcil hayvan ile bulaştığı (%95'i köpek) görülmektedir. Bununla birlikte Ege bölgesindeki 49 kuduz olgusu üzerinde yapılmış olan bir çalışmada (104), kuduz bulaşında en önemli rolü oynayan ve evcil hayvan sınıfına giren köpeklerin %75'inin başıboş hayvanlar olduğu belirtilmiştir. Aynı araştırmada, ısırılan hayvanlardan yalnızca bir tanesinin karantinaya alınıp, kontrolünün sağlandığı, diğerlerinin ise ısırık sonrası kaçtığı veya olay sırasında öldürüldükleri belirlenmiştir. Bu durum, her kuşkuyla ısırık olgusunun tam doz aşılama şemasına alındığı ülkemizde, bu uygulamaya haklılık kazandırmakta, ancak aşı tüketiminin ve buna paralel olarak ekonomik kaybın artması sonucunda, dikkatler bu soruna getirilebilecek çözüm yöntemlerine çevrilmektedir.

Sağlık Bakanlığı verilerine göre Türkiye'de her yıl ortalama 100.000 dolayında şüpheli ısırık olgusu kaydedilmekte ve her yıl artış göstermektedir. Bu artış halkımızın bu konuda bilinçlenmesine ve aşılarla olan güveninin artmasına bağlanmaktadır. Şüpheli ısırık olgularında olaya neden olan hayvanlardan

sokak köpekleri %75 oranıyla ilk sırada yer alırken, kediler de %13 ile onları takip etmektedir. Bu kayıtlı şüpheli ısırık olgularının %97-98'i aşılanmaktadır. Komplikasyonları nedeniyle ucuz bir aşı olan Semple tipi kuduz aşısı ülkemizde de terkedilmiş ve çok daha pahalı olan modern hücre kültürü aşılarının uygulamasına geçilmiştir. Bu aşuların bütçemize maliyetinin yıllık yaklaşık 8.400.000 dolar olduğu tahmin edilmektedir (5, 6, 24, 28, 30). Bu ülkemiz için oldukça önemli bir ekonomik kayıptır. Bu yüksek maliyeti aşağı çekebilmek amacı ile, önce kuşkulu hayvanlarla temas en aza indirilmelidir; bunun için halk eğitilmeli ve başıboş hayvanlarla savaşı, köpeklerin sahiplendirilmesi, aşılanması ve sahipli hayvanların bağlı tutulmaları gibi önlemler alınmalıdır. Ayrıca daha ucuz, etkili ve güvenilir olan yeni aşuların araştırılması (93, 96, 105), hücre kültürü aşularının çok daha az miktarlarda intradermal yolla uygulanması (71, 79, 106-112), aşı şemalarında doz sayılarını azaltılması (113) gibi önerilerin geçerlilikleri araştırılmalı ve uygulamaya geçirilmelidir. Bunun yanında; kuduzla savaşta ülkemizin planlı ve akıllı organizasyonlarla, doğru ve gerçekçi olarak belirlenmiş hedeflere ulaşmak için, politik değişim ve yaklaşımlardan etkilenmeyecek, kararlı bir savaşım programının uygulanmasına gereksinimi vardır (4-6).

Araştırmamızda, ülkemizde kuduz profilaksisinde standardizasyona katkıda bulunmak amacıyla, Türkiye'de kullanılan insan diploid hücresi kuduz aşısı (HDCV) ile pürifiye tavuk embriyon hücre kültürü aşısı (PCEC) ve purifiye Vero hücre kuduz aşısının (PVRV) etkinliklerini karşılaştırdık.

Kuduzla karşı immünizasyondan sonra antikor cevabının ölçülmesi aşının ve başarılı bir tedavinin etkinliğinin bir göstergesi kabul edilir (43). Nötralizan antikorların saptanmasına yönelik referans testlerden ilki olan Fare nötralizasyon testi halen çoğu ülkede kullanılan eski bir testtir (114). Bu testte sürenin uzun ve standardizasyonun zor olması nedeni ile son yıllarda in vitro testler geliştirilmiştir. Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test (RFFIT) fare nötralizasyon testi yerine en yaygın olarak kabul edilen standart bir testtir (1, 2, 43). Daha sonra RFFIT ve FIMT (Fluorescent Inhibition Micro Test) temel alınarak Simplified Fluorescent Inhibition Micro Test (SFIMT) geliştirilmiş ve bir

referans serolojik test olarak kullanılmaya başlanmıştır (43). Bu testlerin yapılabilmesi için hücre kültürü ve infektif virüs üretiminde özel laboratuvar olanaklarına ve deneyimli uzmanlara gereksinim duyulmaktadır.

Pıza AST ve ark.'nın (43) yaptığı bir çalışmada aşılama sonrası kuduz antikörlerinin saptanması amacıyla bir ELİSA yöntemi geliştirmişlerdir. Bu yöntemde plakları kaplamak amacıyla antijen olarak pürifiye tam kuduz virüsü suşu (purified whole PV virus strain) kullanmayı düşünmüşler, bunu human diploid-cell-culture vaccine (Pasteur&Merieux Serums et Vaccine) kullanılarak yapmışlardır. SFIMT (simplified fluorescent inhibition microtest) ile elde edilen sonuçlar temel alındığında kullandıkları ELİSA yönteminin duyarlılığı %87.5, seçiciliği %92.4 bulunmuştur. Ok GE'nin (102) benzer bir çalışmada da plakları kaplamak için HDCV kullanılmış, Platelia Rabies kiti ile elde edilen sonuçlar temel alındığında yöntemlerinin duyarlılığını %99.1, seçiciliğini %94.1 olarak saptamışlardır. Bu her iki çalışmada da sonuç olarak; bu ELİSA yönteminin hücre kültürü olanağı olmayan laboratuvarlar için hızlı, kolay ve ucuz alternatif bir test olduğu ve hatta çok sayıda serum çalışılan laboratuvarlarda da bir tarama testi olarak kullanılabilceği sonucuna varılmıştır. Kitale ve arkadaşları (96) da yaptıkları araştırmalarının sonucunda ELİSA ve RFFIT yöntemleri ile elde edilen sonuçlar arasında yüksek bir korelasyon bulunduğunu belirlemişlerdir. Bu bilgilerin ışığında biz çalışmamızda antikuduz nötralizan antikörlerinin ölçümünde HDCV aşısının antijen olarak kullanıldığı ELİSA yöntemini kullandık.

Ok GE. (102) yaptığı çalışmada HDCV (Pasteur-Merieux) ile aşılanmış bireylerden aşı antijenli ELİSA yöntemi ile anti kuduz nötralizan antikor araştırmış, 30'uncu gün aldığı serumlarda %98.8 (83/84), 90'ıncı gün %100 (79/79) ve 6-12 ay sonra %92.3 (12/13) serokonversiyon oranı saptamıştır, aynı günlerdeki antikor düzeylerinin aritmetik ortalamaları ve titre aralıklarını ise sırasıyla; 10.1 IU/ml (0.2-34.7), 12.9 IU/ml (2.0-35.5), 18.3 (0.3-65.4) olarak belirtmiştir. Çalışmamızda aynı aşı ile aşılanmış kişilerden alınan serumlarda serokonversiyon oranı, antikor düzeylerinin aritmetik ortalaması ve titre aralıkları sırası ile 30'uncu gün; %97.8 (45/46), 4.9 IU/ml, (0.46-26.10),

90'inci gün; %100 (46/46), 5.9 IU/ml (0.61-37.80) ve 1 yıl sonra; %100 (24/24), 7.93 IU/ml (1.40- 19.36) olarak saptanmıştır. Sabchareon A ve arkadaşları (115) bir çalışmalarında HDCV (Pasteur-Merieux) ile temas öncesi aşılama uygulanmış kişilerin kanında 28, 42 ve 180'inci günlerde %100, 365'inci günde %96.8 serokonversiyon oranı saptamışlardır.

Gökal A.A. ve ark. (116) yaptıkları çalışmada yine bir HDCV aşısı olan Rabivac (Behring) ile 2-1-1 şemasına göre aşıladıkları bireylerden 7'nci günde aldıkları kan örneklerinin %70'inde (21/30), 28'inci günde ise tümünde (%100) antikor titresi 0.5IU/ml'nin üzerinde bulunmuşlardır. Bu çalışmada ise Rabivac (Behring) ile 6 dozluk aşılama programına alınan bireylerden 30'uncu gün alınan serumların tümünde (46/46), 90'inci günde %93.5 (43/46) ve 1yıl sonra alınan serumların yine tümünde (10/10) antikor titresi 0.5IU/ml'nin üzerinde saptanmıştır.

Bu çalışmada kullanılan, iki farklı üretici firmaya ait olan fakat her ikisi de insan diploid hücre kültürü aşısı (HDCV) olan Merieux Inactivated Rabies Vaccine™- Pasteur Merieux, Lyon-France ve Rabivac™- Chiron Behring Marburg- Germany karşılaştırılmıştır. Bu aşılarla aşılananlardan 30'uncu, 90'inci günlerde ve bir yıl sonra alınan serumlarda saptanan antikor düzeyleri ve bağışık serum oranları (serokonversiyon oranları) ayrı ayrı gruplar halinde karşılaştırılmış istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Kitala PM ve arkadaşlarının (96) yaptığı bir çalışmada HDCV ile PVRV (Purified Vero cell rabies vaccine) aşıları ile temas öncesi rejime (0, 7, ve 28'inci günlerde 3 dozluk) antikor cevabı karşılaştırılmış, 28'inci günde her iki aşı ile aşılanan bireylerden toplanan kanların tümünde serokonversiyon (0.5IU/ml'ye eşit veya üzerinde antikora sahip) saptanmış ve PVRV'nin HDCV yerine seçilebilecek bir aşı olduğu sonucuna varılmıştır. Suntharasamai P ve arkadaşlarının (97) yaptığı çalışmada ise HDCV ve PVRV aşıları ile temas sonrası aşılama (6 dozluk) karşı antikor cevabı karşılaştırılmış, her iki grupta 28'inci ve 91'inci günlerdeki antikor düzeylerinin istatistiksel açıdan aynı olduğu görülmüştür. Böylece Suntharasamai ve arkadaşları PVRV'yi onayladıklarını

belirtmişlerdir. Lang J ve arkadaşları (57) çalışmalarında PVRV ile 2-1-1 rejiminde (0, 7 ve 21'inci günlerde 4 doz) beraberinde kuduz immunglobülin verilmeyen grupta 28'inci günde %100 (61/61) ve 90'inci günde %98.3 (57/58) serokonversiyon oranı saptamışlardır. Bizim çalışmamızda PVRV ile temas sonrası profilaksi uygulanan bireylerden alınan serumlarda 30'uncu günde %100 (46/46) ve 90'inci günde %95.7 (44/46) serokonversiyon oranı saptanmış, antikor titrelerinin aritmetik ortalamaları ve titre aralıkları ise sırası ile 3.41IU/ml (0.71-9.91) ve 6.37IU/ml (0.15-44.70) bulunmuştur. Çalışmamızda HDCV (Pasteur-Merieux) ve PVRV (Verorab™) ile aşılanmış kişilerden 30 ve 90'inci günlerde toplanan serumlarda elde edilen serokonversiyon oranları ve antikor titrelerinin aritmetik ortalamaları ayrı ayrı gruplar halinde karşılaştırılmış ve istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Wast C ve arkadaşlarının (94) yaptığı bir çalışmada PCEC (Purified chick embryo cell rabies vaccine) aşısı ile aşılanan bireylerde antikor cevabını araştırmışlar, temas sonrası 6 dozlu aşılama programına alınan bireylerin 14'üncü gün, 100'üncü gün ve 1 yıl sonra alınan kanlarının tümünde 0.5IU/ml'nin üzerinde antikor saptamışlar ve bu aşının HDCV ile kıyaslanabilir derecede iyi immünojenite gösterdiğini bildirmişlerdir. Arai YT ve arkadaşları (95) da PCEC'nin temas öncesi aşılamadaki sonuçlarını araştırmışlar ve bu aşının efektif ve güvenli olduğu sonucuna varmışlardır. Yine bir çalışmada (117) Briggs DJ ve arkadaşları HDCV ve PCEC'yi karşılaştırmışlar ve gerekirse bir aşılama şemasının ortasında bu aşılarından birinin yerine diğerinin kullanılabileceğini göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda PCEC ile temas sonrası profilaksi uygulanan bireylerden alınan serumlarda 30'uncu, 90'inci ve 365'inci günde %100 serokonversiyon oranı saptanmış, antikor titrelerinin aritmetik ortalamaları ve titre aralıkları ise sırası ile 3.78IU/ml (0.86-10.10), 6.25IU/ml (0.68-25.20) ve 4.94IU/ml (0.86-14.20) bulunmuştur. Bu çalışmada da HDCV (Pasteur-Merieux) ve PCEC (Rabipur™-Behring) ile aşılanmış kişilerden 30'uncu, 90'inci ve 365'inci günlerde toplanan serumlarda elde edilen serokonversiyon oranları ve antikor titrelerinin aritmetik ortalamaları ayrı ayrı

gruplar halinde karşılaştırılmış ve istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Çalışmada kullanılan aşuların piyasadaki perakende satış fiyatları karşılaştırıldığında HDCV'nin diğer aşulara göre oldukça pahalı olduğu görülmüştür.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar ve daha önce yapılmış araştırmaların ışığında PVRV ve PCEC aşularının HDCV aşısı kadar etkili ve güvenli olduğuna karar verilmiştir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Mortalite oranı bakımından enfeksiyonlar arasında yaklaşık %100 ile en yüksek yüzdeye sahip olan kuduz enfeksiyonu, sağlık açısından olduğu kadar ekonomik açıdan da büyük önem taşımaktadır. Temas sonrası profilakside kullanılan aşılarından özellikle HDCV'nin maliyeti çok yüksek boyutlara ulaşmaktadır. Bu yüksek maliyeti aşağı çekebilmek amacı ile, önce şüpheli hayvanlarla temas en aza indirilmelidir; bunun için halk eğitilmeli ve başıboş hayvanlarla savaşı, sahipli hayvanların bağlı tutulmaları, aşılanmaları gibi önlemler alınmalıdır. Ayrıca, daha ucuz olmasına karşın, etkili ve güvenilir aşı ve/veya aşılama şemalarının geçerlilikleri araştırılmalıdır.

Bu çalışmamızda insan diploid hücresi kuduz aşısı (HDCV) ile pürifiye tavuk embriyon hücre kültürü aşısı (PCEC) ve pürifiye Vero hücre kuduz aşısı (PVRV) gibi diğer hücre kültürü kuduz aşılarının immünojeniteleri karşılaştırılmıştır.

Öncelikle örnek olarak alınacak HDCV aşısını belirlemek amacıyla Merieux Inactivated Rabies Vaccine™ (Pasteur Merieux) ve Rabivac™ (Chiron Behring) karşılaştırılmıştır. Bu aşılarla aşılananlarda %97-99 oranında koruyucu düzeyde antikor (≥ 0.5 IU/ml) saptanmış, her iki aşının etkinliğinin istatistiksel açıdan aynı olduğu bulunmuştur.

HDCV'nin (Merieux Inactivated Rabies Vaccine™), PVRV (Verorab™) ve PCEC (Rabipur™) ile karşılaştırılması amacıyla; bu aşılarla aşılanmış bireylerden 30'uncu günde, 90'inci günde ve 1 yıl sonra alınan serumlarda antikor düzeyleri araştırılmış, elde edilen sonuçlar ayrı ayrı gruplar halinde karşılaştırılmıştır. Bu aşılarla aşılananlarda %97.8 ile %100 arasında serokonversiyon oranı saptanmış olup, bu aşılar arasında istatistiksel açıdan etkinlik farkı olmadığı görülmüştür.

Elde edilen bu sonuçlar ve daha önce yapılmış araştırmaların ışığında PVRV ve PCEC'nin HDCV kadar etkili ve güvenli olduğuna karar verilmiş olup, ülkemiz koşullarında bu hücre kültürü aşılarından her hangi birinin

kullanımına veya ithaline karar verilirken maliyetlerinin göz önünde tutulmasının ülkemiz ekonomisi açısından yararlı olacağı ve bu konuda öncelikle Sağlık Bakanlığı olmak üzere diğer ilgili kurumlara öneride bulunulması düşünülmüştür.



7. KAYNAKLAR

1. World Health Organization. WHO Expert Committee on rabies. 8th report. *World Health Organization technical report* no:824: 1992; 1-84.
2. Fishbein DB, Bernard KW: Rabies virus. In: Mandell GL, Douglas RG Jr, Bennett JE, (Eds.) *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 4th Edition. New York, Churchill Livingstone, 1995; 1527-1543.
3. Warrell MJ. Rabies. In: Cook GC.(ed) *Manson's Tropical Diseases*. 20th Edition. London, WB Saunder, 1996; 700-720.
4. Göktaş P. Kuduzun önlenim ve kontrolü ile ilgili öneriler. In: 5. *Ulusal Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi*. İstanbul, 4-6 Eylül 1995; 31-4.
5. Çalangu S. Avrupa'da ve Türkiye'de insan kuduzu. In: 5. *Ulusal Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi*. İstanbul, 4-6 Eylül 1995; 30.
6. T.C. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, 30.7.1996 tarih ve 6084 sayılı *Şüpheli ısırıklar konulu yazısı*.
7. Fu ZF. Rabies and rabies research: past, present and future. *Vaccine*, 1997;Vol.15: 20-4,
8. Cireli E, Falakalı S: Giriş ve Tarihçe. In:Büke M (Ed.) *Kuduz*, Bornova, İzmir, Ege Ü. Tıp Fak. Dekanlığı Yayın Bürosu Ofset Atelyesi: 1985;1-7,.
9. Serter F, Serter D, (Eds.). *Klinik Viroloji*. Bornova, İzmir; Ege Üniversitesi Basımevi, 1986; 247-265.
10. Unat EK, (Ed). *Tıp Bakteriyolojisi ve Virolojisi*. İstanbul, Dergah Tıp Yayınları, 1987; 1043-1061.
11. Anderson GR, Burgoyne GH. Rabies. In: Specter S, Lancz GJ, (Eds.). *Clinical Virology Manual*. New York, Elsevier Science Publishing Company, 1986; 349-361.

12. Turner GS. Rhabdoviridae and rabies. In: Collier LH, Timbury MC. (eds.) *Topley and Wilson's Prin. of Bacteriology, Virology and Immunity* 8th ed., 1990; Vol 4: 479-98.
13. Haznedaroğlu T. Kuduz. In: Topçu Wilke A, Söyletir G, Doğanay M, (eds.) *İnfeksiyon Hastalıkları*, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 1996; 885-901.
14. Kanra G, Kara A. Kuduz Aşıları. *Rapel*. Mayıs 1999; 4-11.
15. Bernard KW, Fishbein DB: Rabies virus. In: Mandell GL, Douglas RG Jr., Bennett JE, (Eds.) *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 3th Ed, New York, Churchill Livingstone , 1990;1291-303.
16. Corey L: Rabies. In: Fauci AS, Braunwald E, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL, (Eds.) *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 14th Ed, New York, McGraw-Hill 1998; 1128-31.
17. Anderson LJ, Nicholson KG, Tauxe RV, Winkler WG. Human rabies in the United States, 1960 to 1979: Epidemiology, diagnosis and prevention. *Ann Intern Med*; 1984; 100: 728-35.
18. World Health Organization. *WHO Mediterranean Zoonoses Control Centre. Information Circular*. 1994; 33: 7-9.
19. Smith JS: Rabies virus. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, (Eds) *Manual of Clinical Microbiology*. 6th Ed. Washington D.C. ASM press, 1995; 997-1003.
20. Conte JE, Barriere SL: Rabies prevention. In: Mundorff G, Hunsberger S, (Eds) *Manual of Antibiotics and Infectious Diseases*. 7th Ed. Philadelphia, London, 1992; 283-305.
21. Winkler WG, Fashinell TR, Leffingwell L, Howard P, Conomy JP: Airborne rabies transmission in a laboratory worker. *JAMA*, 1973; 226 (10): 1219-21.
22. Houff SA, Burton RC, Wilson RW, et al. Human to human transmission of rabies virus by corneal transplant. *N Engl J Med*, 1979; 300 (11): 603-604.
23. Centers for Disease Control: Human diploid cell strain rabies vaccine. *MMWR*; 27,333, 1980.

24. Devlet İstatistik Enstitüsü. 1989-1993 yılları kuduz mücadele formları ve kuduz vakalarının durum bildirimleri.
25. Wilde H, Chutivongse S, Tepsumethanon W, Choomkasien P, Polsuwan C, Lumbertdacha B. Rabies in Thailand:1990 *Rev Infect Dis*; 1991; 13: 644-52.
26. Yıldırım RC, Afşar OZ, Keçeci M. Dünyada ve Türkiye'de Kuduz. *Sürekli Tıp Eğitim Dergisi*, 1997; (6) 8: 257-9.
27. Erim H. Türkiye'de kuduz mücadelesi. *Rapel*, Haziran 1998; 8-9.
28. T.C. Sağlık Bakanlığı Bilgi İşlem Daire Başkanlığı. Bildirimi zorunlu bazı bulaşıcı hastalıkların vaka sayıları. T.C. Sağlık Bakanlığı Web Sayfalarından.
29. Lontai I. The current state of rabies prevention in Europe. *Vaccine*, 1997; Vol.15: 16-9.
30. Gökteş P: Ülkemizde kuduzun profilaksi ve önlenimi ile ilgili sorunlar. İn: XXVI. *Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Antalya*, 1994; 333-41.
31. Ginsberg HS. Rhabdoviruses. İn: Davis BD, Dulbecco R, Eisen HN, Ginsberg HS, (Eds). *Microbiology*. 4th Ed. Philadelphia, J.B. Lippincott Company, 1990; 1035-44.
32. Serter D. Kuduz virüsü ve Diğer bazı nörotrop virüs hastalıkları. İn: Serter D. (Ed) *Virüs, riketsiya ve klamidy hastalıkları*, 1997: 319-41.
33. : Rhabdoviruslar ve kuduz. İn: Akan E (Ed) *Genel ve Özel Viroloji*. 3. Baskı. İzmir: Saray yayıncılık, 1994: 374-98.
34. Wiktor TJ, György E, Schlumberger HD, Sokol F, Koprowski H. Antigenic properties of rabies virus components. *J Immunol*. 1973;110 (1): 269-76,
35. Fishbein DB, Robinson LE: Rabies (Current concepts). *N. Engl. J. Med*. 1993; 329 (22): 1632-38.
36. McCormick JB: Rhabdoviruses and filoviruses. İn: Joklik WK, Willett HP, Amos DB, Wilfert CM,(Eds). *Zinsser Microbiology*. 20th Ed. New Jersey, Appleton & Lange. 1992; 1028-31.

37. Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA, Brooks GF, Butel JS, Ornston LN,(Eds). Rabies & Slow Virus Infections. In: *Medical Microbiology*. 21th Ed. New Jersey, Appleton & Lange.1998; 533-8.
38. Mims CA, Playfair JHL, Roitt IM, Wakelin D, Williams R. *Medical Microbiology*. London, Mosby Europe Limited. 1998; 303-7.
39. Bhatt DR, Hattwick MAW, Gerdson R, Emmons RW, Johnson HN. Human rabies. Diagnosis, complications, and management. *Am J Dis Child*. 1974; 127: 862-9.
40. Hattwick MAW, Weis TT, Stechschulte CJ, Baer GM, Gregg MB. Recovery from rabies- A case report. *Ann Intern Med*.; 1972; 76 (6): 931-42.
41. Cheetham HD, Hart J, Coghill NF, Fox B. Rabies with myocarditis. *Lancet*, May 2, 1970; 921-22.
42. Robinson P: Rabies. In: Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR, (Eds). *Infectious Diseases*. 1th Ed. WB Saunders Company, Harcourt Brace Jovanovich, Inc. 1992; 1269-75.
43. Piza AST, Santos JLF, Chaves LB, Zanetti CR. An ELISA suitable for the detection of rabies virus antibodies in serum samples from human vaccinated with either cell-culture vaccine or suckling- mouse- brain vaccine. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*. 1999; 41(1).
44. Porras C, Barboza JJ, Fuenzalida E, Adaros HL, de Diaz AMO, Furst J. Recovery from rabies in man. *Ann Intern Med*. 1976; 85: 44-8.
45. Bouhry H, Rollin PE, Vincent J, Sureau P. Comparative field evaluation of the fluorescent-antibody test, virus isolation from tissue culture, and enzyme immunodiagnosis for rapid laboratory diagnosis of rabies. *J Clin Microbiol*. 1989; 27 (3): 519-23.
46. Blendon DC, Creech W, Torres-Anjel MJ. Use of immunofluorescence examination to detect rabies virus antigen in the skin of humans with clinical encephalitis. *J Infect Dis*. 1986; 154 (4): 698-701.

47. Wilson JM, Hettiarachchi J, Wijesuriya LM. Presenting features and diagnosis of rabies. *Lancet*, Dec 6, 1975; 1139-40.
48. Merigan TC, Baer GM, Winkler WG, et al. human leukocyte interferon administration to patients with symptomatic and suspected rabies. *Annals of Neurology*, 1984; 16 (1): 82-7.
49. Centers for Disease Control and Prevention. Human Rabies Prevention- United States, 1999 Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR*, 1999; 48 (noRR-1): 1-17.
50. Vaughn JB, Gerhardt P, Paterson JCS. Excretion of street rabies virus in saliva of cats. *JAMA*, 1963; 184 (9): 705-8.
51. Vaughn JB, Gerhardt P, Newell KW. Excretion of street rabies virus in the saliva of dogs. *JAMA*, 1965; 193 (5): 363-8.
52. Fekadu M, Shaddock JH, Baer GM. Excretion of rabies virus in the saliva of dogs. *J Infect Dis*. 1982; 145 (5): 715-9.
53. Fekadu M, Shaddock JH, Baer GM. Intermittent excretion of rabies virus in the saliva of a dog two and six months after it had recovered from experimental rabies. *Am J Trop Med Hyg*. 1981; 30 (5): 1113-5.
54. Veeraraghavan N, Subrahmanyam TP. Value of antirabies vaccine with and without serum against severe challenges. *Bull Wild Health Org*. 1960; 22: 381-91.
55. Fang-Tao L, Shu-Beng C, Guan-Fu W, Fan-Zhen Z, Nai-Min C, Ji-Zui F. Study of the protective effect of the primary hamster kidney cell rabies vaccine. *J Infect Dis*. 1986; 154 (6): 1047-8.
56. Mertz GJ, Nelson KE, Makornkawkeyoon S, Rosanoff EI, Tint H, Wiktor TJ. Antibody responses to human diploid cell vaccine for rabies with and without human rabies immune globulin. *J Infect Dis*. 1982; 145 (5): 720-7.
57. Lang J, Simanjuntak GH, Soerjosembodo S, Koesharyono C, & the MAS054 Clinical Investigator Group. Suppressant effect of human or equine rabies

- immuno globulins on the immunogenicity of post-exposure rabies vaccination under the 2-1-1 regimen: a field trial in Indonesia. *Bull Wld Hlth Org.* 1998; 76 (5): 491-5.
58. Corey L, Hattwick MAW, Baer GM, Smith JS. Serum neutralizing antibody after rabies postexposure prophylaxis. *Ann Intern Med.* 1976; 85 (2): 170-6.
59. Karliner CJS, Belaval GS. Incidence of reactions following administration of antirabies serum. *JAMA.* Aug 2, 1965; 193 (5): 109-12.
60. Wilde H, Chomchey P, Prakongsri S, Puyadatabandhu P, Chutivongse S. Adverse effects of rabies immune globulin. *Vaccine,* 1989; 7 (1): 49-52.
61. Wilde H, Chomchey P, Pragongsri S, Punyaratabandhu P. Safety of equine rabies immune globuline. *Lancet,* 1987; 2: 1275.
62. Loofbourow JC, Cabasso VJ, Roby RE, Anuskiewiez W. Rabies immune globulin (human), Clinical trials and dose determination. *JAMA,* 1971; 217 (13): 1825-31.
63. Merieux inactivated rabies vaccineTM- Pasteur Merieux, Lyon- France. Aşı prospektüsü.
64. VerorabTM- Pasteur Merieux, Lyon- France. Aşı prospektüsü.
65. RabipurTM- Chiron Behring. Aşı prospektüsü.
66. RabivacTM- Chiron Behring. Aşı prospektüsü.
67. Reid-Sanden FL, Fishbein DB, Stevens A, Briggs DJ. Administration of rabies vaccine in the gluteal area:A continuing problem. *Arch Intern Med.* 1991; 151: 821.
68. T:C. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü. Kuduz korunma ve kontrol yönergesi. Ankara 2001.
69. Eker MM. Kuduz hastalığı ile mücadelede belediyelerin rolü. 5. *Ulusal Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi. İstanbul,* 4-6 Eylül, 1995; 35-6.
70. T:C. Bakanlar kurulu kararı. Hayvan sağlığı ve zabıtası yönetmeliği. 22.2.1989; No13838: 2679-80.
71. Nicholson KG. Modern vaccines, Rabies. *Lancet,* May 19, 1990; 1201-5.

72. Roumiantzeff M, Aijan N, Branche R, et al. Rabies vaccine produced in cell culture: Production control and clinical results. In: *Applied Virology*. Academic press, 1984; 241-70.
73. Hemachudha T, Phanuphak P, Johnson RT, Griffin DE, Ratanavongsiri J, Siriprasomsup W. Neurologic complications of Semple-type rabies vaccine. Clinical and immunologic studies. *Neurology*. 1987; 37: 550-6.
74. Held JR, Adaros HL. Neurological disease in man following administration of suckling mouse brain antirabies vaccine. *Bull Wld Hlth Org*. 1972; 46: 321-7.
75. Hattwick MAW, Corey L, Creech WB. Clinical use of human globulin immune to rabies virus. *J Infect Dis*. 1976; 133 (Suppl): 266-72.
76. Kaiser HB, Sokol A, Beall GN. Unusual reaction to rabies vaccine. *JAMA*, 1965; 193 (5): 119-20.
77. Wasi C, Chaiprasithikul P, Thongcharoen P. Stability of human diploid cell rabies vaccines. *Lancet*, June 4, 1983; 1272.
78. Nicholson KG, Burney MI, Ali S, Perkins FT: Stability of human diploid cell-strain rabies vaccine at high ambient temperatures. *Lancet*, Apr 23, 1983; 916-8.
79. Aoki FY, Tyrrell DA, Hill LE. Immunogenicity and acceptability of a human diploid-cell culture rabies vaccine in volunteers. *Lancet*, March 22, 1975; 660-2.
80. Bahmanyar M, Faydy A, Nour-Salehi S, Mohammadi M, Koprowski H. Successful protection of humans exposed to rabies infection. Postexposure treatment with the new human diploid cell rabies vaccine and antirabies serum. *JAMA*. 1976; 236 (24): 2751-4.
81. World Health Organization. WHO Expert Committee on rabies. 7th report. *World Health Organization technical report no:709,1984; 7-37.*

82. Anderson LJ, Baer GM, Smith JS, Winkler WG, Holman RC. Rapid antibody response to human diploid rabies vaccine. *Am J Epidemiol.* 1981; 113 (3): 270-5.
83. Centers for Disease Control: Adverse reactions to human diploid cell rabies vaccine. *MMWR.* 1980; 29 (50): 609-10.
84. Knittel TH, Ramadori G, Mayet WJ, Löhr H, Meyerzum-Büschel KH. Guillain-Barre syndrome and human diploid cell rabies vaccine. *Lancet*, June 10, 1989; 1334-5.
85. Tornatora CS, Richert JR. CNS demyelination associated with diploid cell rabies vaccine. *Lancet*, June 2, 1990; 1346-7.
86. Centers for Disease Control. Systemic allergic reactions following immunization with human diploid cell vaccine. *MMWR.* April 13, 1984; 33 (14): 185-7.
87. Thongcharoen P, Wasi C, Chavanich L. Post-exposure prophylaxis against rabies in children by human diploid cell vaccine. *Lancet*, Aug 21, 1982; 436-7.
88. Fridel E, Grandien M, Johansson R. Pre-exposure prophylaxis against rabies in children by human diploid cell vaccine. *Lancet*, March 17, 1984; 623.
89. Cates W. Treatment of rabies exposure during pregnancy. *Obstet Gynecol.* 1974; 44 (6): 893-5.
90. Chutivongse S, Wilde H. Postexposure rabies vaccination during pregnancy: experience with 21 patients. *Vaccine*, 1989; 7: 545-8.
91. Chabala S, Williams M, Amenta R, Ognjan AF. Confirmed rabies exposure during pregnancy: treatment with human rabies immune globulin and human diploid cell vaccine. *Am J Med.* 1991; 91: 423-4.
92. Varner MW, Mcguinness GA, Galask RP. Rabies vaccination in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1982; 143 (6): 717-8.

93. Fang-Tao L, Fan-Zhen Z, Longmu L, et al. The primary hamster kidney cell rabies vaccine: Adaptation of viral strain, production of vaccine, and pre- and postexposure treatment. *J Infect Dis.* 1983; 147 (3): 467-73.
94. Wasi C, Chaiprasithikul P, Chavanich L, Puthavathana P, Thongcharoen P, Trishanananda M. Purified chick embryo cell rabies vaccine. *Lancet*, Jan 4, 1986; 40.
95. Arai YT, Ogata T, Oya A. Studies on Japanese-produced chick embryo cell culture vaccines. *Am J Trop Med Hyg.* 1991; 44 (2): 131-4.
96. Kitala PM, Lindqvist KJ, Koimett E, et al. Comparison of human immune responses to purified vero cell and human diploid cell rabies vaccines by using two different antibody titration methods. *J Clin Microbiol.* 1990; 28 (8): 1847-50.
97. Suntharasamai S, Karbwang J, Supanaranond W, et al. Purified vero cell rabies vaccine and human diploid cell strain vaccine: Comparison of neutralizing antibody responses to post-exposure regimens. *J Hyg Camb.* 1986; 96: 483-9.
98. Suntharasamai P, Warrel MJ, Warrel DA, et al. New purified vero-cell vaccine prevents rabies in patients bitten by rabies animals. *Lancet*, July 19, 1986; 129-31.
99. Byron S. Rabies vaccine adsorbed: Neutralizing antibody titers after three-dose pre-exposure vaccination. *AJPH.* 1990; 80 (4): 476-7.
100. Prevec L, Campbell JB, Christie LB, Graham FL. A recombinant human adenovirus vaccine against rabies. *J Infect Dis.* 1990; 161: 27-30.
101. Cadoz M, Strady A, Meignier B, et al. Immunisation with canarypox virus expressing rabies glycoprotein. *Lancet*, 1992; 339: 1429-32.
102. Ok GE. Kuduz aşısından antijen hazırlayarak aşılannmış kişilerde antikor düzeylerinin belirlenmesi. Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim dalı, Doktora Tezi, İzmir; 1995.

103. Harlow E, Lane D. (Eds) *Antibodies: a laboratory manual*. 1st Ed. Newyork, Cold Spring Harbor Laboratory,1988; 496-565.
104. Bke M, Karakartal G, Günhan C, Serter D, Yüce K, Otkun M. Ege bölgesinde 49 olguyla kuduzun epidemiyolojik ve klinik özelliklerinin değerlendirilmesi. *Infeksiyon Dergisi*, 1987; 1 (1): 69-74.
105. Hacibektaşoğlu A, İnal A, Eyigün C, Barut A, Türkay FA. PVRV ve HDCV kuduz aşılarının temas öncesi aşılamada güvenilirliğinin ve koruyucu değerinin karşılaştırılması. *Mikrobiyol Bült*, 1992; 26: 26-36.
106. Chutivongse S, Wilde H, Supich C, Baer GM, Fishbein DB. Postexposure prophylaxis for rabies with antiserum and intradermal vaccination. *Lancet*, 1990; 335: 896-898.
107. Burridge MJ, Sumner JW, Baer GM. Intradermal immunization with human diploid cell rabies vaccine: serological and clinical responses of immunized persons to intradermal booster vaccination. *Am J Public Health*, 1984; 74 (5): 503-505.
108. World Health Organization. Rabies surveillance- preexposure rabies prophylaxis by the intradermal route. *Wkly Epidem Rec*. 1983; 58 (20): 154.
109. World Health Organization. Intradermal administration of human diploid cell rabies vaccine. *Wkly Epidem Rec*. 1982; 57 (40): 310.
110. Bernard KW, Roberts MA, Sumner J, Winkler WG, Mallonee J, Baer GM, Chaney R. Human diploid cell rabies vaccine. Effectiveness of immunization with small intradermal or subcutaneous doses. *JAMA*, 1982; 247 (8): 1138-1142.
111. Warrell MJ, Suntharasamai P, Nicholson KG, Warrell DA, Chanthavanich P, Viravan C, Sinhaseni A, Phanfung R, Xueref C, Vincent-Falquet JC: Multi-site intradermal and multi-site subcutaneous rabies vaccination: improved economical regimens. *Lancet*, 1984 ;Apr 21: 874-876.

112. Centers for Disease Control: Supplementary statement on pre-exposure rabies prophylaxis by the intradermal route. *MMWR* , 1982; 31 (21): 279-285.
113. Gross EM, Belmaker I, Torok V. Diploid Cell Rabies Vaccine, Six Doses or Five. *Lancet*, 1987; Dec 5: 1339.
114. Sitti-Amorn C, Jiratanavattana V, Keoyoo J, Sonpunya N. The diagnostic properties of laboratory tests for rabies. *Int J Epidemiol.* 1987; 16: 602-605.
115. Sabchareon A, Lang J, Attanath P, Sirivichayakul C, Pengsaa K. A new Vero cell rabies vaccine: results of a comparative trial with human diploid cell rabies vaccine in children. *Clin InfectDis* 1999; 29: 141-9.
116. Gökal AA, Özgüneş N, Coşkunsu F. Temas sonrası kuduz profilaksisinde 2-1-1 şemasının etkinliğinin araştırılması. *XXVIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi kitabı*, 4-9 Ekim 1998; 175.
117. Briggs DJ, Dreesen DW, Nicolay U, et al. Purified chick embryo cell culture rabies vaccine: interchangeability with human diploid cell culture rabies vaccine and comparison of one versus two-dose post-exposure booster regimen for previously immunized persons. *Vaccine* 2001; 19: 1055-60.

ÖZGEÇMİŞ

NURİ ÖZKÜTÜK

Doğum yeri ve tarihi: Mut-İçel, 08.04.1965

Uyruğu : T.C.

Eğitimi :

1971-1976 Gazi İlkokulu, Nevşehir.

1976-1979 Merkez Ortaokulu, Nevşehir.

1979-1982 Nevşehir Lisesi, Nevşehir.

1982-1988 Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Bursa.

1995-2002 Celal Bayar Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü,
Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Doktora programı

Çalıştığı kurumlar :

1988-1990 Kırşehir Verem Savaş Dispanseri tabipliği, Kırşehir.

1990-1991 120/1. Sınır Jandarma taburu yedek subay tabibi, Çaldıran-
Van

1991-1994 Kırşehir Verem Savaş Dispanseri tabipliği, Kırşehir.

1994-1995 Manisa Verem Savaş Dispanseri tabipliği, Manisa.

1995-2002 Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve
Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi.

Yabancı dili : İngilizce.

Sosyal durumu : Evli ve bir çocuklu

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ