

VETERİNER HEKİMLİKTE AŞILAR VE AŞI UYGULAMALARINDA DİKKAT EDİLECEK HUSUSLAR (*)

Nejat AYDIN (**)

Aşılar, verildikleri canlıda immünite sistemi uyararak vücudu hastalıklara karşı aktif bağışık hale getiren maddelerdir. İlk defa çiçek aşılması ile başlayan ve daha sonra birçok hastalığa karşı uygulamaya sokulan aşı ile bağışıklama yöntemleri ile günümüzde, her aşıdan olumlu sonuç alınmasa bile, hemen her hastalığın aşısının üretilmesi üzerinde yoğun çalışmalar yapılmaktadır. İlerleyen teknik ve moleküler düzeydeki çalışmalar sonunda ileride hemen her hastalığa karşı etkin bir aşı elde edilebileceği mümkün görülmektedir.

Gerek moleküler kimya ve gerekse gen mühendisliği dallarının hızla gelişmesi, aşı üretiminde yeni tekniklerin doğmasına yol açmıştır. Bu yolla elde edilen aşılar, aslında klasik aşılar olarak adlandırabileceğimiz (Tüm bakteri, virus, parazit ve toksinlerden attenuasyon veya inaktivasyon yoluyla hazırlanan aşılar) aşıların etkili olmadığı (Bazı viral, bakteriyel ve paraziter hastalıklar) veya istenmeyen yan etkilerinin görüldüğü (Newcastle, kuduz, çiçek, vs.) hastalıklarla mücadele amacıyla hazırlanmaktadır. Birçoğunun üretimi şu anda deneme aşamasında olan ve geleceğin aşıları olarak tanımlanan bu aşılarından başarılı sonuçlar alındığı çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir. Yeni teknikler ile elde edilmeye çalışılan aşıları

(*) İstanbul Bölgesi Veteriner Hekimler Odası I. Meslek içi Eğitim Semineri, 19-20 Ekim 1987'de sunulmuştur.

(**) Prof. Dr., A. Ü. Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

beş grupta toplamak mümkündür. Buna göre; 1— Rekombinant DNA aşıları, 2— Kimyasal yolla sentez edilen aşılar, 3— Rekombinant virus aşıları, 4— Mutant aşıları, 5— Antiidiotip antikor aşıları olarak adlandırabileceğimiz bu aşıların yakın bir gelecekte yaygın olarak kullanım alanı bulacağı şüphesizdir.

Aşı Türleri

Son yıllardaki gelişmeler gözönünde tutularak aşılar şu şekilde sınıflandırılabilirler:

I — Klasik aşılar

1 — Mikroorganizma aşıları

a) Canlı aşılar (bakteri, virus)

b) Ölü (veya inaktif) aşılar (bakteri, virus)

2 — Toksin aşıları

II — Yeni tekniklerle hazırlanan aşılar

1) Rekombinant DNA aşıları

2) Rekombinant virus aşıları

3) Mutant aşıları

4) Anti-idiotip antikor aşıları

5) Kimyasal yolla sentez edilen sentetik aşılar

I — Klasik Aşılar

Bu tür aşılar genellikle alışlagelmiş yöntemlerle mikroorganizmalardan ya da bunların toksinlerinden (toksik metabolitlerinden) hazırlanan aşılardır.

1 — Mikroorganizma aşıları

Bu aşılar mikroorganizmaların gövdelerinden (vegetatif formlar) ya da sporları) veya organellerinden (fimbria, pilus) hazırlanan canlı veya ölü aşılardır.

a) Canlı (veya aktif) aşılar

Canlı aşılar hastalık etkeninin kendi konakçısı yada değişik konakçılarda olduğu gibi çeşitli besiyerleri, doku hücreleri ve embriyolu yumurtada uzun süren pasajlar sonucu elde edilirler. Hastalık yapma yeteneğini kaybeden veya çok zayıflayan ancak immunojenik yeteneğini taşıyan bu mikroorganizmalara uygulanan işleme **attenuasyon** ve aşılar ise **attenué** aşı adı verilir. Attenuasyon çoğunlukla mikroorganizmaları kendi doğal koşullarında üretmek suretiyle genlerinde oluşacak değişikliklerle (mutasyon) yeni mutantlar elde etmek yoluyla yapılır. Şayet aşı yapmak için uygun bir mutant seçilmişse enfeksiyona karşı iyi bir bağışıklık verirler. Ancak mutasyon yani mikroorganizmanın attenué edilmesi iyi tespit edilememişse o zaman enfeksiyonlara ve ölümlere sebep olunabilir.

Attenué aşılar, virulansı yapay olarak azaltılmış mutant suşlar elde edilerek veya doğal olarak virulensi azaltmış olan suşların seçimi ile hazırlanır. Yapay olarak virulensi azaltılmış mutantlar genellikle besiyerinde, deney hayvanlarında, doku kültürlerinde ve embriyolu yumurtada uzun süre yapılan pasajlarda elde edilir. Optimal ısıdan daha yüksek bir ısıda üretmekle, pH'sı uygun olmayan veya az miktarda zararlı maddeler bulunduran besiyerlerinde üretmekle de virulansı azaltılmış suşlar elde edilmektedir. Attenué aşılarla ilgili çalışmalar ilk defa 1879'da Pasteur ile başlamıştır. Pasteur, önce tavuk kolerası etkeni ve antraks basilini zayıflatmayı başardı. Bunu daha yüksek ısılarda (43°C'de) ve anaerobik koşullarda kültür yapmak gibi yöntemlere başvurarak gerçekleştirdi ve zayıflatılmış organizmalarla bağışıklık verebildi. Mycobacterium bovis suşu Calmette ve Guerin tarafından 13 yıl safıralı, gliserinli ve patatesli ortamlarda zayıflatıldılar. Bu araştırmacılar daha yaygın bir gelişme elde edebilmek için kültür ortamına safra ilave ettiler.

İlk defa Pasteur tarafından attenué edilmiş suşlarla hazırlanan Anthrax aşısından başka bugün Brusella abortus S19, Brusella melitensis Rev-1, Keçi ciğer ağrısı gibi canlı bakteri, Newcastle adele, Newcastle BGD, Marek, Gumboro, Mavi Dil, At vebası, Avinize kuduz aşısı (Kelev), Koyun çiçek aşısı; Kanatlı encephalomyelitis'i ve İnfeksiyöz laryngotracheitis'i gibi canlı virus aşıları da hazırlanmıştır. İnsan hekimliğinde ise Çiçek, Poliomyelit, Sarı humma gibi hastalıklara karşı hazırlanmış attenué virus aşıları vardır. Yine Kızamık, Kabakulak ve İnfluenza aşıları da canlı aşılardır.

Canlı mikroorganizma ile aşılama serolojik yakınlığı olan bir diğer suş kullanılarak da yapılabilmektedir. İnek çiçeği virusu çiçek hastalığına karşı, Rickettsia mooseri'nin virulansı azaltılmış bir suşu epidemik tifüse karşı aşılamada kullanılır. Yine arboviruslar arasındaki ortak antijenler bu tür aşıların yapılmasına elvermemektedir.

Son yıllarda bilhassa kanatlı hayvan aşılarının (Gumboro ve Newcastle) hazırlanmasında, aşı suşu virusun plak karakterine göre klonlanmakta ve deney hayvanlarında kontrol edilerek pratiğe sürülmektedir. Örneğin; Gumboro aşı suşu seçilirken sahadan toplanan suşlar doku kültürüne ekilmekte, daha sonra aynı plak karakterinde olan alt populasyonlar izole edilerek ayrı ayrı doku kültürlerinde klonlanmakta attenué edilerek herbiri tek tek deney hayvanlarında bağışıklık verme gücü yönünden denenmektedir. En yüksek bağışıklık sağlayan alt populasyon aşı suşu olarak kullanılmaktadır. Örneğin; Gumboro B78 ve Newcastle klon 30 aşı suşları böyle elde edilmiştir.

Canlı aşıların avantajları : Tek dozu yüksek titrede antikor oluşturur. Çünkü, verilen aşı etkeni vücut dokularında üremeye devam eder. Ürettiği müddetçe de antijen üretildiğinden R.E.S.'yi kamçılmaktadır. Bu yüzden inaktif aşılarından çok düşük miktarlarda verilmesi ile yeterli bağışıklık sağlanır ve uzun süre devam eder. Ayrıca canlı aşıların göze damlatılarak, püskürtülerek, yem veya suya ilave edilerek kullanılmaları da bir avantajdır. Daha ucuz olması da önem taşır.

Canlı aşıların dezavantajları :

1 — Latent ve gizli seyreden hastalıklar canlı aşı uygulamasıyla tekrar aktif hale geçebilirler.

2 — Latent infeksiyonlu veya zayıf hayvanlarda, canlı aşısındaki virus fazla gelerek hastalık oluşturabilir. Bu yüzden canlı virulent etkenler ile aşı hazırlanırken mümkün olduğunca patojenitesi düşük fakat antijen yeteneği yüksek suşlar seçilmeli ve aynı zamanda bir aşı dozunda bulunması gereken etken miktarı çok dikkatli titre edilmelidir.

3 — Ayrıca, aşıya bağlı postvaksinal zararlar olabilir. Canlı aşı uygulanan hayvanlarda virus genellikle dışarı saçılır ve civardaki aşısız hayvanlar için tehlikeli olur. Aynı zamanda canlı aşı viruslarının

bazıları doğada sık sık pasaja uğrayınca virulent olurlar ve bizzat virus çoğalması esnasında spontan mutantlar meydana gelir. Böylece aşıları hayvanlar salt aşı virusunu değil, meydana gelen bu mutantları da etrafa yayarlar.

4 — Canlı virus aşılarının diğer bir dezavantajı, kültür maddesini (embriyolu yumurta, primer doku kültürü) gizli olarak infekte eden ve farkedilmeyen etkenlerle (Mycoplasma, onkojenik viruslar vs.) ilgilidir.

b) Ölü (veya inaktif) aşılar

Ölü bakteriler ve inaktive edilmiş viruslar immunizasyon için antiijen kaynağıdır. Bakterin adı da verilen ölü bakteri aşıları hazırlanırken aşı suşu olarak saklanan bakterinin antiijenik yapısının korunduğundan emin olmak gerekir.

Aşı için bakterinin üreme durumuna göre, katı veya sıvı besiyerinde kültürü hazırlanır. Daha sonra ml'sindeki bakteri sayısı saptanan aşı tuzlu su ile standart hale getirilir. Çeşitli yöntemlerle inaktive edildikten sonra aşıya koruyucu amaçla fenol, merthiolat gibi maddeler ilave edilerek aşı hazırlanmış olur. Örneğin; sığır ve mandaların hemorajik septisemisi (P.multocida), koyun vibriosis'i, Leptospira gryppotyphosa, kanatlı korizası, hindi erisyphelas'ı aşıları, insulların brusella, kolera, tifo ve veba aşıları ölü aşılarıdır.

Canlı virus aşılarının elde edilmesinde ve aktivitelerinin korunmasında bazı güçlüklerin olması ve bazı hastalıklara karşı henüz tamamiyle tehlikesiz bir canlı aşı yapabilecek uygun bir virus suşu bulunamamış olması nedeniyle inaktif virus aşıları da kullanılmaktadır. Ayrıca inaktif aşılar fazla stres'e neden olmadıkları gibi, bu aşılarla diğer infeksiyöz etkenlerin bulaşma olasılığı da azdır. Denemelere göre inaktif bir virusun iyi ve uzun süreli bağışıklık verebilmesi için ilk önce virusun uygun ortamlarda çok bol olarak üretilmesi gerekir ki bu da aşının çok pahalıya mal olmasına yol açar. Daha sonra bu viruslar uygun inaktive edici maddelerle inaktive edildikten ve uygun bir adjuvanla karıştırıldıktan sonra aşı olarak kullanılırlar.

Bağışıklık verme güçleri canlı aşılarından daha az olan inaktif virus aşıları interferon sentezini uyarması ile infeksiyonu izleyen birkaç gün içinde bir koruma özelliği gösterirler. Aşıya bağlı özel bağışıklık ise bundan bir süre sonra gelişir. İnaktif aşıların parenteral

uygulanması, dolaşımdaki antikorları yeterli bir düzeye çıkarsa bile, koruma yönünden iyi olmayan sonuçlar ortaya çıkabilir. Çünkü, sokak tipi virusun girdiği bölgede yada ilk çoğalma yerinde (Örneğin; Solunum yolu virusları için nazofarenks) önemli bir yerel direnç gelişmez. Bu tür aşılarda bağışıklık çoğu kez kısa sürelidir. Bu yüzden inaktif aşıların immunizasyon yeteneğini arttırmak için virusun uygun adjuvantlardan biriyle verilmesi gerekir. Virusun bağışıklık gücünü arttırmak, aşının çift doz takibi ile de olasıdır. Yalnız, ikinci enjeksiyonlarda yabancı proteinlerin tekrar vücuda girmesinden doğacak aşırı duyarlılık gibi allerjik reaksiyonların meydana gelmesi bu aşılamamanın en büyük sakıncasıdır. Aktif kuduz aşısında olduğu gibi ikinci enjeksiyonu takiben meydana gelen bu allerjiyi önlemek için aşı içinde virustan başka allerjik etki yapabilecek maddelerin bulunması lazımdır. Bazı bakteri (şarbon) ve virusların (influenza) sadece etkili antijenlerinin saf olarak elde edilmesiyle yan etkileri en az olabilecek aşıların yapılmasına çalışılmaktadır.

Mikroorganizmalar inaktive edilirken antijen karakterlerinin bozulmaması lazımdır. Bunun için de inaktive edilecek virusun veya bakterinin değişik inaktive edici maddelerle infeksiyözitesi giderilir, antijenik etkisi ise olduğu gibi bırakılır.

Aşıların inaktivasyonları kimyasal ve fiziksel olmak üzere iki türlü yapılmaktadır. **Kimyasal inaktivasyon'da** kullanılan maddelerden formolün % 0.2 - 0.5'lik eriyiklerinden yararlanılır. Yine formol gibi alkilen maddelerden olan beta propiolakton inaktivasyon amacıyla 1-5 ppm oranında kullanılır. Fenol'ün (asit fenik, karbolik asit) ise % 0.1 - 0.3 oranında yapılan solusyonundan yararlanılır. Bunlar içinde geniş kullanım alanı bulan formol'ün şap virusunu tam inaktive edemediği, virus partikülünü bozduğu ve Binary ethylene imin'in daha iyi sonuç verdiği bazı araştırmacılar tarafından bildirilmektedir. Kristal violet, nitrik asit, ökaliptüs yağı gibi maddeler de kimyasal inaktivasyonda kullanılmaktadır. **Fiziksel inaktivasyon'da** ise UV ışınları ve ısı kullanılır. Ultraviyole ışınlarının mikrop öldürücü etkisi fazladır. Dalga boyları 100-3800 A° olan UV ışınlarında bu etki dalga uzunluğunun kısaltıldığı oranda artar. 2000 ile 3000 A°'lük ışınların mikrop öldürücü etkisinin fazla olmasına rağmen tam bir inaktivasyon sağlanabilmesi için inaktive edilecek mikrop ile UV ışını arasında hiçbir şeyin bulunmaması gerekir. Mikroorganizmaların tahrip olmaları için belli bir enerjiyi absorbe etmeleri gerekir. Bu enerji, ışınlama sü-

resi ile ışının yoğunluğunun çarpımına eşittir. Çeşitli mikroorganizmaların inaktive olma spektrumları değişik olduğundan en uygununu seçerek kullanmak gerekir. Yine aynı tarz ısı da belli derecelerde ve sürelerde etkidiği zaman inaktive edici olmaktadır. Genel olarak normal inaktivasyon 80-100°C arasında yapılmakta olup bundan başka düşük dereceler ise iyi sonuç vermemektedir.

2 — Toksin aşıları (toksoid'ler)

Toksin meydana getiren bakterilere karşı bağışıklanma, toksine karşı bağışıklık sağlamakla mümkündür. Bakteri sıvı besiyerinde üretildiğinde toksin meydana getirir. Kültürün filtrelerden süzülmesiyle elde edilen toksin uygun sulandırma ile aşı olarak kullanılabilir. Ancak başlangıç dozu çok fazla olmalı ve sonraki enjeksiyonlarda miktarı artırılmalıdır. Toksik etkisi fazla olduğundan bağışıklamada kullanılacak toksin bazı işlemlere tutulur. Bakteriyel ekzotoksinler tek başlarına (anatoksin-toksoid) veya basil gövdeleri ile birlikte (anakültür) formol ile karıştırılıp 37-40°C'de 1 ay kadar bekletildiklerinde detoksifiye edilmiş olurlar. Bu işlem sırasında önemli immunojen determinantlarının harap olmadığı bildirilmekte ise de antijenik güçlerinden bir miktar kaybettikleri saptanmıştır. Nitekim *Cl. haemolyticum* beta toksini ve toksoidlerinin ayrı ayrı tavşanlara enjekte edilmesiyle elde edilen antitoksinlerden beta toksinine karşı oluşanın, toksoidine karşı oluşandan 15 kat daha etkili oluşu formolün beta toksinini tahrip ederek kuvvetli antitoksin meydana getirmesini engellediğini göstermektedir.

Ana kültürler veteriner aşıları içinde önemli bir yere sahiptirler. Antijenik yapılarının sabit, bağışıklık verme güçlerinin oldukça yüksek olması nedeniyle anaerobik Gram pozitif bakteriler, Gram negatiflerin tersine koruyucu mücadelede büyük bir yardımcı olup, başka bir yola gereksinme duymadan çok iyi sonuçlar alınmasına olanak vermektedirler.

İki ya da daha çok antijen aynı zamanda verilirse, organizma herbirine karşı, bu antijenler ayrı ayrı verilmiş gibi antikor yanıtı verir. Bu sonuçlara dayanılarak ve tekrarlanan enjeksiyonlarla sürülerin hırpalanmasından kaçınmak ve zaman kayıplarına engel olmak amacıyla bazı ülkelerde birçok anaerob enfeksiyona karşı toksoidlerle hazırlanmış **Polivalan** aşılar kullanılmaya başlanmış ve bundan iyi sonuçlar alındığı bildirilmiştir.

Koruyucu uygulamada geniş kullanım alanı bulan, hayvanların alun dö potas'a adsorbe, formolle inaktive edilmiş enterotoksemi aşısı ile alüminyum hidroksid'e adsorbe ve formolle inaktive edilmiş botulismus aşısı, Cl.haemolyticum'la hazırlanmış formüllü ikterohe-moglobinuri aşısı anakültür, alun dö potas'a muamele edilmiş ko-yunların infeksiyöz hepatit nekrozan aşısı ile insanların difteri ve tetanoz aşıları anatoksin (toksoid) aşılardandır. Ayrıca insan hekimliğinde difteri, tetanoz anatoksinleri ile H.pertussis, S.typhi, S.paratyphi A ve B mikroorganizmalarının bir araya gelmesi ile hazırlanmış ikili, üçlü, dördlü ve beşli karma aşılar da vardır. Kanatlılarda kullanılan NC+Gumboro ve NC+Gumboro+EDS76 inaktif aşıları da karma aşılardır.

II — Yeni Tekniklerle Hazırlanan Aşılar

1 — Rekombinant DNA Aşıları :

Şap ve hepatitis B viruslarının yüzey proteinlerinin klonlanması ile hazırlanan aşılarda bağışıklık verme güçleri üzerinde yapılan çalışmalardan olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Rekombinant DNA teknolojisi yardımı ile E.coli'de hazırlanan biyosentetik şap aşısının iki doz olarak verilmesi halinde sığır ve domuzları iyi koruduğu ve nötralizan antikolar meydana getirdiği belirlenmiştir. Yukarıda bildirilen bu iki virus dışında, Newcastle, influenza, vesiculer stomatitis, kuduz, herpes simplex vs. virusların yüzey proteinlerini kodlayan genler saptanarak bunlara karşı çeşitli mikroorganizmalarda aşılarda hazırlandığını bildiren çalışmalar bulunmaktadır. Ayrıca köpeklerin parvovirus gastroenteritis, insan papilloma, IBR, Rift valley fever, paramyxoviruslar da çalışma alanı içine alınmış bulunmaktadır.

Rekombinant DNA teknolojisinde, DNA üzerinde bulunan ve önemli bir proteinin sentezini kodlayan gen'in çıkarılması, bir taşıyıcı (vektör) DNA ile birleştirildikten sonra bir bakteriye (E.coli'ye) aktarılması teknolojisi üzerinde durulmuştur. Bu araştırmalarda hep çift iplikçikli DNA'lar kullanılmıştır.

Genlerin alınması, sadece DNA viruslarında değil aynı zamanda RNA viruslarında da olanak dahiline girmiş bulunmaktadır (çift veya tek iplikçikli).

Virusun antijenik olan yüzey proteini sentezini kodlayan gen'in klonlanması suretiyle elde edilen aşılar (subunit aşılar) tüm virus

aşılarının olmadığı, bulunmadığı, bazı sakıncalarının bulunduğu vs. durumlarda, hazırlanmalarının düşünülmesi gerektiği vurgulanmaktadır. İnsan ve hayvanlara ait viral aşılar da görülen postvaksinal enfeksiyonlar bu sakıncaların başında gelmektedir. Bazı viral aşılar da tam bir inaktivasyonun sağlanamaması sonu veya genotipte oluşan değişiklikler neticesinde virulent forma dönüşebilmekte ve enfeksiyonlar meydana gelebilmektedir. Attenué aşılar da yukarıda bahsedilen geriye dönüş (virulent forma geçiş) zaman zaman görülmektedir. Polio aşısı postvaksinal paralizler, kuduz'da da benzer durumlar ve şap aşılamalarından sonra çıkan enfeksiyonlar bunlara verilebilecek bazı örnekler arasında da bulunmaktadır. Tam pürifiye edilememiş tam virus aşıları da hayvanlarda pirojenik ve allerjik reaksiyonlara ve hatta abortuslara neden oldukları da açıklanmıştır. Bu nedenle ve tam virus aşılarına karşı, sadece antijeniteyi sağlayan proteinin sentezini kodlayan gen'in çıkarılması ile hazırlanan subunit aşılarında bu sakıncalar bulunmamaktadır. Ayrıca, tüm virus aşılarında, virus genomunda birçok proteinin sentezini yöneten genlerde bulunduğu ve bunların bazılarının antijenik etkisi olabileceğinden de, sadece genden elde edilen subunit aşılarından daha kontamine bir durum göstermektedirler. Böylece istenmeyen yan etkilerden korunmuş olunmaktadır. Ayrıca yapılan araştırmalarda, subunit aşılarında, tüm virus aşılarına oranla 100 kat daha fazla yüzey proteinini bulunmaktadır.

Viral aşıların hazırlanmasında, viral genomun karakterinin önemi daha fazladır. Diğer bir deyimle, DNA (çift veya tek iplikçikli) ve RNA (tek veya iplikçikli) özellikleri dikkate alınmalıdır.

Viral genomun klonlanmasında başlıca 3 önemli yöntem kullanılmaktadır.

1 — Bu durumda, viral genom üzerinde, yüzey protein sentezini kodlayan gen'in yeri ve sınırları saptandıktan sonra restriksiyon endonuklease (RE) enzimleri yardımıyla çıkarılır. Elde edilen gen taşıyan DNA fragmanı taşıyıcı bir plasmid DNA'sına bağlandıktan sonra bir bakteriye aktarılmaktadır, genel rekombinant DNA teknolojisi burada da kolayca uygulanabilmektedir.

2 — Burada virion tek iplikçikli bir RNA virusu olup şap virusu söz konusudur. Burada izlenecek yöntem daha komplike ve uzun olmaktadır. Şap virusu yaklaşık 8000 nukleotid uzunlukta üzerinde antijeniteyi sağlayan V₃ RNA segmenti (gen'i) bulunmaktadır. Önce, vi-

rusdan tüm genom çıkarılır. Oligodeoksinukleotid timidin primer olarak kullanılmak, polimerase enzimi ve **reverse transkriptase (RT)** enziminden yararlanmak suretiyle, tek iplikçikli olan RNA'dan buna komplementer olan **cDNA** sentezlenir. Tek iplikçikli olan bu cDNA kalıp ödevi görerek, **DNA polimerase-I** enzimi yardımı ile de diğer DNA iplikçığı sentezlenerek, böylece tek iplikçikli olan RNA'dan çift iplikçikli DNA elde edilmiş olur. Bu DNA üzerinde gen'in bulunduğu bölge saptanarak restriksiyon enzimleri ile kesilir (9. ile 211. aminoasitler arası) ve çıkarılır. Bu çıkarmada **PstI** (Providencil stuarti) ile **PvuII** (P.vulgaris) restriksiyon enzimleri kullanılır. İki ucunda yapışkan uçlara sahip olan bu gen taşıyan segment, üzerinde tetrasiklin'e karşı dirençlilik faktörü taşıyan (Tcr) ve aynı tarzda yapışkan uçlara sahip olan plazmidler ve **DNA ligase** enzimi ile birlikte inkubasyona konulduktan sonra E.coli K12 suşuna aktarılır. İnkubasyondan sonra E.coliler içinde tekrasiklin bulunan ortama ekilerek, bu plasmidi alanların üremeleri ve alamayanların da ürememeleri sağlanır. Böylece plazmidin girdiği E.coli'ler kültürlerde bir seleksiyona tabi tutularak en iyi viral antijeni sentezleyenler belirlenir ve yan tesirleri yönünden incelemeye tâbi tutulur.

Ayrıca, şap virusunda tek iplikçikli olan viral genom RNA, bir mRNA (mesenjer RNA) görevini yapmaktadır ve bundan yararlanılarak DNA oluşturulmaktadır.

3 — Virionun RNA özelliğinde olduğu durumlarda veya bazı hallerde mRNA'yı hücre içinden elde etmek ve bundan yararlanarak DNA sentezlemek mümkün olabilmektedir. İşte, viral RNA yerine infekte hücrelerden bu virusun oluşturduğu mRNA'yı izole etmek, aynı işlemler kullanılmak suretiyle, rekombinant DNA teknolojisi uygulanabilir ve aşılar elde edilebilir.

Bakterilerde rekombinant aşılar hazırlanmaktadır. Örneğin, B. anthracis'in kapsül proteini E.coli K 12 pR 322 plazmidine konarak biyosentetik aşı elde edilmiştir.

2 — Rekombinant Virus Aşıları :

Son yıllarda genetik rekombinasyon tekniklerinin geliştirilmesi ile birçok virusta viral genomun çeşitli tekniklerle tanınması bazı virüslerin aşılama vektör olarak kullanılabilmesini ortaya koymuştur. Bu amaçla, özellikle çift iplikçikli DNA taşıyan Papova, Adeno,

Herpes ve Pox virusları ile RNA genomunda olup çift iplikçikli DNA'ya replike olabilen viruslar üzerinde çalışılmıştır.

Bu zamana kadar yapılan aşılama çalışmalarında en başarılı sonuç Pox virüslerden ve özellikle Vaccinia virüslerinden elde edilmiştir. Vaccinia virüsü 187.000 baz çiftini kapsayan geniş bir genoma sahip olması ve 25000 baz çifti kapsayan bir DNA segmenti ile birleşebilmesi ve çok sayıda nonesansiyel proteini kodlayan gen gruplarına sahip olması, rekombinasyonun infektif özelliğini bozmaması, elde edilen gen ürünlerinin glikolizasyona uğraması ve konakçı sayısının oldukça fazla olması gibi avantajlara sahiptir.

Rekombinant virus aşılı canlı aşılardır. Rekombinant DNA teknolojisi ile elde edilen yabancı DNA segmenti vaksinya virüsünde timidin kinaz enzimi kodlayan gen'in bulunduğu bölgeye bağlanır. Timidin kinaz gen'i virus için yaşamsal bir önem taşımamaktadır. Daha sonra belirli dozda ve istenilen gen segmentini taşıyan Rekombinant virus canlıya verilir. Vektör olarak kullanılan virüsün taşıdığı gen segmentinin canlıda oluşturduğu ürünlere karşı bir immun yanıt oluşur.

Deneyisel Rekombinant Vaccinia virus aşılı Hepatitis B, influenza, domuzların TGE (Transmissible Gastroenteritis) ve sıtma hastalığı için kullanılmıştır.

Hepatitis B etkeni Herpes Simplex tip 1 virüsünün glukoprotein D'yi kodlayan gen'i vaksinya virüsüne aktararak elde edilen Rekombinant virus aşısı intra venöz ve intra dermal olarak tavşanlara verilmiş ve nötralizan antikorlar elde edilmiştir.

Benzer olarak influenza virüsünün klönlanmış hemaglutinin genlerini taşıyan rekombinant vaksinya virüsü aşısı tavşan ve hamsterlere intradermal yolla verildiğinde nötralizan antikorlar oluşturmaktadır.

Rekombinant virus aşılı parazitler hastalıklarına karşı da kullanılabilir. Sıtma hastalığı paraziti olan Plasmodium knowlesi sporozit antijenini kodlayan genleri içeren bir rekombinant vaksinya virüsü sıtma etkeninin protein epitoplarına karşı elde edilen monoklonal antikorlar reaksiyon vermiştir.

Rekombinant vaksinya virüsü inaktif aşıların üretiminde de kullanılabilir. Yabancı gen ürünleri genellikle konakçı hücre

membranları veya hücre kültürleri sıvılarında bulunmaktadır. Bu sıvı ve membranlardan subunit (alt ünite) aşılarının elde edilmesinde yararlanılmaktadır.

Rekombinant vaksinya virusundan iyi sonuçlar alınmışsa da canlı aşı olmalarından dolayı birtakım komplikasyonlar beklenebilir. Nitekim 1968 yılında ABD'de canlı aşı olarak kullanılan vaksinya virusu 14 milyon kişiye uygulanmış ve komplikasyon görülen 572 kişiden 9'u ölmüştür. Ayrıca canlıda önceden varolan bağışıklık nedeniyle vaksinya virusuna karşı meydana gelebilecek bir anamnestik yanıt virus replikasyonunu engelleyebilir. Şu anda, vaksinya virusu dışındaki virüsler tam olarak anlaşılmadığından dolayı kullanılamamaktadırlar.

Rekombinant virus aşılı ile yapılan çalışmalar şu anda tamamen deneysel olup insanlarda denenmemiş ve piyasaya ticari preparat olarak sürülmemişlerdir. Fakat, gelecekte özellikle birçok değişik epitopa ait genleri içeren polivalan rekombinant virus aşılarının kullanılarak tek dozda birçok hastalığa karşı korunma sağlayabileceği düşünülebilir.

3 — Mutant Aşılı :

Gen mühendisliğinde meydana gelen gelişmeler patojeniteyi oluşturan genlerin infeksiyöz ajanların çoğalmasını etkilemeyecek şekilde çıkarılmasını sağlayabilmektedir. Bu durum mutant aşılı adını verebileceğimiz yeni bir aşının üretim tekniğinin doğmasını sağlamıştır. Halen deneme aşamasında olan bu aşılardan birçok çalışmada başarılı sonuçlar alındığı bildirilmektedir. Genlerin yeniden düzenlenmesi ve delesyon teknikleri hem virus hem de bakterilerde uygulanmaktadır.

Yapılan bir çalışmada rekombinasyon tekniği ile elde edilen patojenik gen'i çıkarılmış rekombinant Herpes simplex 1 ve 2 virusunun farelere intra-serebral verildiğinde virulent virusunun belli dozlarına (oral yolla 3000 LD₅₀) karşı koruma oluşturduğu gösterilmiştir. Buna benzer çalışmalar influenza virusu ile de yapılmıştır.

Çeşitli bakterilerin de delesyon mutantları meydana getirilmekte olup bunları aşı olarak kullanmanın yararları araştırılmaktadır. Bu çalışmaların kapsamında salmonella, shigella ve vibrio delesyon mutantları bulunmaktadır.

Salmonella typhi'nin AgalE suşunun (Ty21a:LDP galaktöz-4-empimeraz aktivitesi olmayan ve buna ek olarak da 2 enzim aktivitesi bulunmayan) Salmonella typhi'nin vahşi tip suşlarına karşı yeterli sürede arttırılan dozlar kullanılırsa bağışıklığı oluşturulabileceği ileri sürülmüştür. Benzer olarak, aromatik biyosentezinde bozukluk bulunan mutant salmonella suşları (bunlar konakçı dokularından elde edemedikleri amino ve dihidroksi benzoat gereksinmesindedirler) buzağılara oral veya intramuscular olarak verildiğinde, S.typhi'nin UDC suşunun 10^{11} organizmasından daha fazlasını oral yolla verilmesiyle oluşabilecek infeksiyona karşı direnç oluşturdukları ortaya konulmuştur.

Salmonella typhi ve Shigella sonnei'nin hibrid suşları hem tifo hem de dizanteriye karşı aşı olarak kullanılabilirler. Shigella sonnei genlerinin kodlandığı bir plasmid attenué edilmiş Ty21a Salmonella typhi suşuna konjugasyon yolu ile aktarılırsa hayvanlarda her iki organizmanın antijenlerine karşı antikor oluşumu sağlayan hibrid bir bakteri meydana gelir.

V.cholera 01 sp EITör'un toksininin A ve B kısımlarını kodlayan genler çıkarılıp bağışıklığı sağlayan B ünitesi bir plasmid ile transformasyon yolu ile tekrar bakteriye verilmiştir. Daha sonra bu bakteri ile olarak aşılınmayı kabul eden insanlara oral yolla virulent organizma verilmiş ve büyük oranda korunma elde edilmiştir.

Mutant aşılı ile yapılan çalışmalar yine büyük ölçüde gen mühendisliği ve buna yardımcı bilim dallarının gelişmesine bağlıdır. Rekombinant DNA tekniklerinin geliştirilmesi ve infeksiyöz ajanların genomunun tamamen çözülmesi bu aşuların etkin bir şekilde kullanılabilmesini sağlayacaktır.

4 — Anti-idiotip Antikor Aşılı :

Bir antikor molekülü iki ağır ve iki de hafif zincirden oluşmuştur. Hem ağır hem de hafif zincirler sabit ve değişken bölgelere sahiptirler. Sabit bölgeler aynı sınıfa giren bütün antikorlarda birbirine benzer. Fakat bir bireyin her B hücre klonu tarafından üretilen antikorların değişken bölgeleri (Amino asit sıraları) birbirinden farklıdır. İşte idiotip terimi bir bireyin yalnızca bir antikor sınırında bulunan o antikora özgül bölgeleri tanımlamada kullanılır.

Bilindiği gibi, bir antikor ile antijenin bağlanması anahtar-kilit ilişkisine benzer. Antijeni bir kilit olarak kabul edersek bunun ancak

ona en uygun olan anahtar yani, antikor açabilecektir. Bu da anti-korun değişken bölgesindeki amino asit sıralamaları ile yani anti-korun idiotipi ile ilgilidir. İdiotiplere karşı oluşan antikorlar ile ilgili ilk teori JERNE tarafından ortaya atılmıştır. Buna göre immunizasyondan sonra, kuramsal olarak bir x antijenine karşı oluşan antikor (Ab 1), x antijeni üzerindeki epitop'a benzer bölgeler taşır ve bu bir anti-anti x antikoru (Ab 2) için antijen olarak görev yapar. İşte anti-jenin epitopuna karşı oluşan bu antikorlara **idiotip antikorlar** (Ab1) ve buna karşı oluşan antikorlara ise **anti-idiotip antikorlar** (Ab2) adı verilir. Anti-idiotiplerle yapılan son çalışmalarda bunların Ab2a ve Ab2B diye iki çeşit oldukları saptanmıştır. Ab2a'nın yapılan çalışmalarda idiotipe spesifik olmadığı buna karşın Ab2B'nin invitro koşullarda A.1 ile birleşmek için antijenle yarıştığı gözlenmiştir. Ayrıca Ab2B'nin invivo koşullarda Ab3 yapımını uyardığı görülmüştür.

Jerne idiotip ve anti-idiotiplerin immun yanıtı regüle ettiğini ileri sürmüştür. Jerne'ye göre idiotipler antikorların, T ve B hücrelerinin yüzey reseptörleri üzerinde bulunmaktadır. Bir antijene yanıt verildiğinde B ve T hücreleri çoğalırlar, antikor seviyesi yükselir ve idiotip konsantrasyonu artar.

Vücut normal koşullarda kendi ürettiği moleküllere karşı tolerans gösterir ve bu moleküllere karşı immun yanıt oluşturmaz. Jerne bir bireydeki idiotiplerin normalde oldukça düşük seviyelerde bulunduğunu ileri sürmüştür. Bu yüzden idiotiplerin artan konsantrasyonu anti-idiotip reseptörleri taşıyan diğer lenfosit gruplarının çoğalmasını uyarır. Lenfositlerin ikinci populasyonlarında ilk immun yanıtı regüle eden anti-idiotip antikorları salgılanır. Jerne regulasyon olayının direk olarak idiotip taşıyan antikorlara bağlanıp onları inaktive etmek şeklinde veya indirek olarak lenfositleri regüle eden T hücrelerinin yüzeyindeki idiotiplere bağlanarak olabileceğini bildirmiştir. Anti-idiotiplerin immun yanıt üzerine etkisi uyarıcı veya baskılayıcı olabilir.

Orijinal antijenin dahili görüntüsünü (internal image) taşıyan Ab2'ye karşı oluşan Ab3 orijinal antijene bağlanabilme yeteneğindedir.

Bu görüşlerden yararlanılarak anti-idiotiplerden aşı olarak yararlanma yoluna gidilmiştir. Bu amaçla çeşitli deney hayvanlarında adjuvantlı veya adjuvantsız olarak hazırlanan anti-idiotip antikor aşıları denenmiştir.

İnfekte insan plazmasından elde edilen Hepatitis B virusuna karşı oluşmuş idiotip antikolar tavşanlara verilmiş ve bunlardan elde edilen anti-idiotip antikolar (Ab2) farelere verildiğinde orijinal anti-jene bağlanıp nötralize etme yeteneğinde olan anti-anti-idiotip antikolar (Ab3) elde edilmiştir.

Yapılan bir araştırmada tavşanlara insan plazmasından elde edilen Hepatitis B virusuna karşı oluşmuş idiotip antikoları enjekte edilmiş ve elde edilen anti-idiotip antikoları (Ab2) Hepatitis B aşısı olarak iki şempanzeye verilmiş ve kontrol olarak da nonspesifik tavşan immunglobulinleri verilen iki şempanze kullanılmıştır. Sonra her iki grubu Hepatitis B virusu ile infekte ettiğinde, nonspesifik tavşan immunglobulinleri verilenlerin karaciğer enzim seviyelerinde artmalar ve hastalığa ait diğer klinik bulguları saptarken anti-idiotip antikolarla aşılanan hayvanlarda herhangi bir hastalık belirtisi görülmemiştir.

Anti-idiotiplerin çeşitli viral (sendai ve reovirus, kuduz, herpes simplex, çocuk felci, vs. bakteriyel (özellikle infantlarda, Str.pneumoniae, H.influenza, N.meningitidis gibi hücre duvarında şeker bulduranlar) ve protozoer (koksidiozis, sıtma etkenleri gibi) etkenlerin neden olduğu hastalıklarda aşı olarak kullanılabileceği ileri sürülmüştür.

Şayet anti-idiotip aşıları insanlar için üretilmeye başlarsa diğer aşı üretim tekniklerine göre birtakım avantajlar sağlayabilir. Şu anda kullanılan aşılar enfeksiyöz ajanların öldürülmüş, attenuue veya pürifiye antiijenleridir. Hernekadar protein antiijenleri son zamanlarda Rekombinant DNA teknolojisi ile elde ediliyorsa da Hepatitis B antiijeni gibi birçok antiijenin saflaştırılması çok zordur. Çünkü, birçok bakteri ve protozoanın antiijenik kısımları karbonhidrattan oluşmuş olup bu kısımlar Rekombinant DNA yöntemi ile veya sentetik olarak sentezlenemez. Ayrıca attenuue edilmiş patojenlerin aşı olarak kullanılması sırasında etkenin tekrar virulens kazanma tehlikesi vardır. Şayet anti-idiotip aşılar monoklonal antikor tekniği ile kolayca elde edilebilirse hastalık etkeni olmadıklarından korumayı kolaylıkla sağlayabilirler. Anti-idiotiplerin cazip bir yanı da spesifiteleridir. Bir anti-idiotip yalnızca dahili görüntüsünü (internal image) taşıdığı antiijene karşı antikor yanıtı oluşumunu sağlar. Buna karşın attenuue edilmiş bir enfeksiyöz etken koruyucu immunitiyi indükleyen bir tanesi yanında birçok antiijenik determinant taşıyabilir. Bunların bazıları vücut

dokuları üzerindeki determinantlara benzer ve otoimmün bir yanıt oluşturabilirler.

Anti-idiotip aşılarda patojenik bakteri hücre duvarlarının şeker antijenlerine karşı yanıt oluşturamayan yenidoğanlarda önem taşır. Bu bakterilere (H.influenza, N.meningitidis, Str.pneumoniae, vs.) karşı hazırlanan konvensiyonel aşılarda yenidoğanlarda etkisizdir. Bir anti-idiotip hücre duvarı materyalinin yapısının taklididir fakat protein yapısındadır. Böyle anti-idiotip antikorlar protein yapısındaki antijenlere yanıt verme yeteneğinde olan yenidoğanlarda aşı olarak kullanılabilir. Deney hayvanlarında yapılan çalışmalar aşının etkin olabileceğini göstermiştir.

Çeşitli faktörler insan aşısı olarak anti-idiotip antikorların kullanımını kısıtlamaktadır. Anti-idiotiplerin tavşan gibi bir deney hayvanında hazırlanıp verilmesi bazı insanlarda ateş ve allerjik reaksiyonlara neden olabilir. Birçok anti-idiotip antikor bir antijenin meydana getirdiği yanıtla eşit bir immün yanıt oluşturabilir fakat Jerne'nin bildirdiği gibi immün sistem üzerine baskılayıcı bir etkide bulunabilir.

Son yıllarda anti-idiotiplerin kanserin sağaltımında aşı olarak kullanılabileceğine ilişkin çalışmalar yapılmıştır.

5 — Kimyasal Yolla Sentez Edilen Sentetik Aşılarda :

Son yıllarda sentetik polipeptid aşılarda hazırlanması yolunda yoğun çabalar sarfedilmektedir. Bakteri veya virusların antijenik özellik taşıyan bölgelerinin (antijenik determinant) veya bakteri toksinlerinin kimyasal yapısının çözülmesi bu tip aşılarda yapımına bir basamak teşkil etmektedir. Giderek gelişen teknoloji ve molekül kimya sayesinde antijenik karakterdeki yapıların açık kimyasal formülleri ortaya konabilmektedir. Henüz sadece kısa zincirli polipeptidler sentezlenmekte olup bilgisayar tekniğinden yararlanılarak spesifik epitoplarda ayırdedilebilmektedir.

Örneğin; Str.pyogenes'in M yüzey proteini gelecekteki sentetik antibakteriyel aşılarda iyi bir örnek olabilir. A grubu streptokokların fagositoza olan dirençlerinin bu yüzey proteininden geldiği düşünülmektedir.

Diğer bir örnek, difteri toksinidir. Difteriye karşı halen kullanılan kullanılan aşılamada detoksifiye edilmiş difteri toksini ya da toksoidi ile immunizasyon yoluyla olmaktadır. Difteriye karşı, koyalarda, dif-

teri toksininin dermonekrotik aktivitesi ve letal etkisini nötralize eden antikorlar oluşturan 188-201 aminoasitten kurulu, sentetik bir polipeptid aşısı yapılmıştır.

Yine yapılan bir çalışmada virusun hemagglütinasyon yeteneğini sağlayan antiijenik bölgesi bulunmuş ve bu bölgenin moleküler yapısına benzeyen 91-108 aminoasitten kurulu bir sentetik polipeptid aşısı ile farelerde koruma sağlanabileceği bildirilmiştir.

Hazırlanan sentetik aşılar ile genellikle Freund'un adjuvantı kullanılmıştır. Hernekadar yapılan çalışmalarda bazı başarılı sonuçlar alınmışsa da sentetik polipeptid aşıları moleküler kimyadaki ilerlemelere bağımlı olarak geleceğin aşıları olmaktadır. Şu anda hazırlanmaları çok pahalı ve zahmetli olduğundan klasik aşı hazırlama yöntemleri tercih edilmektedir.

Bağışıklığa Etkileyen Faktörler

a) **Aşıların hazırlanması, titre edilmesi, liyofilize edilmesi, muhafazası :** Aşılar en iyi saflaştırma yöntemleri kullanılarak ve aşı yapımının her aşamasında kontaminasyon yönünden kontrol edilerek hazırlanmalı, inaktivasyon ve attenuasyon işlemlerine dikkat edilmelidir. Aşıların titre edilmesi sırasında dozlar iyi ayarlanmalı ve liyofilizasyon sırasında titrelerin düşeceği gözönünde bulundurulmalıdır. Ampul veya şişeler içinde hazır bulunan aşılar serin (genellikle +4°C'de) ve karanlık yerlerde saklanmalıdır.

b) **Aşının dozu :** Bir aşı ne kadar başarılı olursa olsun, duyarlı bireylere uygun dozda verilmedikçe, hastalığa karşı koruyucu değildir. Her aşı için bu bilgiye uymak zorunluluğu vardır. Çünkü, çok az miktardaki antijen saptanabilecek miktarda antikor oluşmasına sebep olmaz, ancak bir miktar gizli bağışıklık sağlayabilir. Diğer taraftan çok fazla miktarda verilen antijen ise antikor oluşumunu inhibe eder ki, buna immunolojik felç adı verilir.

c) **Aşılama yolları :** Aşılar vücuda peros veya parenteral (solunum, deri altı, damar, kas, periton ve deri içi) yollarla verilebilir. Antijenin organizmaya verilmiş yolunun değişik olması immun yanıtın meydana gelmesini etkiler. Bu yollarla verilen antijen dalak, kemik iliği ve akciğerde birikir ve antikor başlıca dalakta teşekkül eder.

Fakat bağışıklamada deri altı ve kas içi yollar kullanılır ve bu yollarla verilen antijen de en yakın lenf düğümüne girer ve antikor

orada teşekkül eder. Damar içi verilen aşilar ise dalak ve karaciğere gider ve buralardaki plasma hücrelerini uyararak antikor sentezini sağlar. Bu uygulamaların yanısıra kanatlılara karşı hazırlanmış canlı aşiların göze damlatılarak, kloakaya fırça ile sürterek kanat zarına iğne ile batırmak suretiyle, içme suyuna ilave ederek ve spray şeklinde uygulamak suretiyle uygulananları olduğu gibi, insanların sabın aşısı gibi oral, BCG gibi deri içi tatbik edilenleri de vardır.

d) **Aşılama adedi** : Aşılama adedi ve aşılama arasındaki sürenin de immunité seviyesi ile yakın ilişkisi vardır. Örneğın; Bir defa enterotoksemi aşısı tatbik edilen hayvanların kan serumunda 0 - 0.25 Uİ beta antitoksini, 1.25 Uİ epsilon antitoksini saptandığı halde, üç hafta ara ile iki defa yapılan aşılamalarda birincinin seviyesi 5 - 60 Uİ'ye ikincinin seviyesi ise 1.25 - 5 Uİ'ye yükselmiştir. Eğer, aşı bir defa tatbik edilip bırakılmış olsaydı immunité seviyesi düşük olacaktı. Bu yüzden her aşı için gerekli sayıya uymak zorunluluğu da vardır. Ayrıca, bağışıklık genellikle, antijen uygulanmasından 15 gün sonra o aşidan beklenen maksimal seviyeye ulaştığından, aşı uygulanmasından hemen sonra o aşidan fayda ummak ta hata olur. Ölü aşilar genellikle 2 doz, bir defa ve canlı aşilar genellikle 1 doz, bir defa verilirler.

e) **Hayvanın yaşı** : Humoral ve hücresele bağışıklık yanıtları ve aşırı duyarlılık reaksiyonları, organizmanın kendine ait olan doku maddelerini kendinden olmayan yabancı maddelerden ayırdedebilme yeteneğine dayanır. Yani immunolojik olgunluğa erişmiş bir organizmanın bağışıklık mekanizmaları kendi maddelerine karşı immun yanıt vermez. Fakat kendinden olmayan maddelere karşı reaksiyon gösterirler. Halbuki fetal hayattakilere ve yenidoğanlara yabancı bir antijen verilirse herhangi bir bağışık yanıt elde edilmez. Yani bu antijen o canlı tarafından kabul edilmiştir ki bu olaya immunolojik tolerans adı verilir.

Kanatlı hayvanlarda da bu durum görülmektedir. Hayvanlar 3-4 haftalık olmadan önce aşılandıkları zaman, belli bir yaşa ulaşmış olanlar kadar kuvvetli bir bağışıklık elde edemezler. Nitekim Hollanda'da Hitchner ve LaSota virusları ile yapılan Newcastle spray aşı denemelerinden çıkan sonuçlardan biri de, bir aylıktan fazla yaşta olanlardan çok daha az olduğu, başka bir deyişle, hayvanların yaşı arttıkça, antikor düzeyinin daha fazla yükselmekte olduğu ve daha uzun süre kanda kaldığıdır. Bu yüzden, Marek, Gumboro ve çiçek

dışındaki tavuk hastalıklarına karşı aşılamalar geciktirilmeli ve mümkünse 3 haftalıktan önce uygulanmamalıdır.

f) **Maternal veya homolog antikorlar** : Aşılama zamanının seçilmesinde önemli olan bir nokta da yavrunun maternal antikor seviyesidir. Aşılamadan önce kanda homolog antikorların bulunması, verilen aşı etkenini nötralize eder ve hayvanları duyarlı hale getirir. Bu yönden aşı uygulanacak bireylerin kanında aynı aşı etkenine karşı antikor bulunup bulunmadığı araştırılmalıdır.

Nitekim yapılan bir araştırmada bir günlük iken NCV burun, göz damla aşısı ile aşılanan civcivlerin patojen Newcastle virusuna dayanamadıkları, % 10 oranında felç ve ölümler görüldüğü saptanmıştır. Yine Newcastle aşısında revaksinasyonların bilinçsiz bir şekilde uygulanmasında verilen aşı virusunun kanatlıdaki mevcut immunitiyi nötralize ettiği ve yumurtaya geçen antikorlarda düşme meydana getirdiği başka araştırmacılar tarafından bildirilmektedir.

Benzeri durumlar siğir vebasına karşı aşıları ineklerin buzağuları için de söz konusudur. Bu hayvanlarda plasentadan immunglobulinler geçmediği için buzağular antikora sahip olmadan doğarlar. Fakat daha sonra bu buzağular kolostrum ile birlikte analarından antikor da aldıklarından böyle buzağularda üç ay geçmeden yani antikorlar kaybolmadan aktif bağışıklık verilmez. Halbuki analarından pasif bağışıklık almamış olanlara birinci günden itibaren aktif bağışıklık verilebilir. Buna karşılık bazı aşıların uygulanmasında maternal antikorların kaybolmasını beklemek gerekmemektedir. Kanatlıların infeksiyöz laryngotracheitis'i, Marek ve Gumboro hastalığı buna örnek olarak gösterilebilir.

g) **Bireysel faktörler** : Aynı dozda antijen uygulanmasına karşılık aynı türün değişik bireylerinde meydana gelen bağışıklık seviyelerinin farklı olabilmesi bireysel faktörlerin de bağışıklıkta rolü olduğunu göstermektedir. Bu ayrılıklar antikor oluşumunun genetik kontrol altında bulunmasından ileri gelmektedir.

h) **Adjuvantlar** : Pratik ve ekonomik nedenlerden dolayı koruyucu aşılamaların en az sayıda enjeksiyonu ve en az miktarda antijeni gerektirmesi arzu edilir. İşte adjuvant denilen bazı maddeler antijenle birlikte enjekte edildiklerinden daha kuvvetli bir bağışıklık elde edilmesini sağladıkları gibi bazı hallerde antijenlerin stabilitesini yükseltirler ve enjeksiyonların tekrarını gerektirmezler. Böylelikle de ba-

ğışıklıkta büyük rol oynarlar. İnsan hekimliğinde olduğu kadar veteriner hekimlikte de brusellosis, salmonellosis, mycoplasmosis, pasteurellosis, anthrax, enterotoksemi, şap, sığır vebası, çiçek, Newcastle, kuduz, vs. gibi birçok enfeksiyonlara karşı başarı ile kullanılan adjuvantların en önemli görevi antijenin şırınga edildiği yerden çabuk dağılmasını önleyerek uzun ömürlü bir antijen rezervuarı oluşturmaktır. Bu tür adjuvantların en çok kullanılanı alüminyum bileşikleri (fosfat ve hidrokisit) ve Freund'un yarım adjuvantıdır (lanolin ve parafin yağı karışımı). Kalsiyum ve magnezyum tuzları, madeni yağlar, saponin, lanolin, amonyum bileşikleri, vitamin A, hayvan kömürü, betonit, kolesterol, tetramizol ve Ps.aeruginosa, S.typhosa, Pr.vulgaris, E.coli, Br.melitensis, C.parvum, BCG gibi endotoksinlerde adjuvant etkisi gösterirler. Bunlar kompetan hücreleri uzun süre uyarma özelliğindedirler. Aynı zamanda şırınga edildikleri yerde yavaş bir tarzda lokal bir granulom oluştururlar. Depo edici adjuvantların etkisi altında makrofajlar tarafından oluşturulan bu granulomdan antijen yavaş yavaş vücuda girebilir. Böylece sürekli bir antijenik uyarım sağlanmış olur. Diğer taraftan adjuvantlar, makrofajların fagositoz etkisini arttırmak suretiyle kendileri tarafından alınmış olan antijenlerin immun yanıtı hazırlanmasını sağlar. Aynı zamanda antikor oluşumunu kolaylaştırırlar ve toleransın indirgenmesini bloke ederler. Adjuvantlar hücrel immunitiyi harekete geçirmek ve lizozomal enzimleri serbest bırakmak suretiyle de enfeksiyonlara karşı dayanıklılığın artmasını da sağlar.

Özellikle zayıf antijenlerle veya ölü (veya inaktif) aşılarla kullanılması önem taşıyan adjuvantların birtakım sakıncaları da görülmektedir. Örneğin: Veteriner hekimlikte yaygın olarak kullanılmakta olan yağlı adjuvantlar sığırlarda inokulasyon yerinde önemli lokal şişkinliklere, apselere neden olurlar. Yine keçilerin saponin'e karşı diğer hayvanlardan daha fazla reaksiyon gösterdikleri bilinmektedir.

i) **Beslenme ve parazitler** : Beslenme bozukluğu olan fertlerde normale yakın bir immunolojik yanıt alınabilirse de, insanlarda B₆ vitamini noksanlığında bu yanıtta azalma görülebilmesi, A avitaminoz'da Newcastle aşısının yeterli bağışıklık vermemesi beslenmenin de bağışıklıkta rol oynadığını göstermektedir. Ayrıca iç ve dış parazitlerin de bağışıklığın kırılmasında büyük rolleri olduğu belirtilmektedir.

j) **Antibiyotikler** : Antibiyotiklerde bazı koşullar altında bağışıklığa olumsuz etkide bulunabilmektedir. Örneğin: Canlı veya attenué aşılar söz konusu olduğunda aşılamaadan birkaç gün önce ve aşılamaadan sonra 3-4 haftaya kadar hayvanlara aşı antijeninin duyarlı olduğu antibiyotik ve sulfonamid'lerin verilmemesi gerekir. Antibiyotiklerin ölü aşıların bağışıklığı üzerinde de olumsuz etkisi görülebilmektedir. Yurdumuzda çeşitli hayvan hastalıklarından korunmada ilk ve son çare olarak aşı uygulamaları akla gelmektedir. Ancak her zaman aşılama ile hastalıkların girişini, bulaşmasını, yayılmasını ve doğurdukları zararları önlemek mümkün değildir. Bu nedenle, verimli ve sağlıklı bir yetiştirmede hayvanların sağlıkları yönünden aşağıda belirtilen iki husus üzerinde titizlikle durmak gerekir.

Bunlar da;

1 — İşletmelerde, infeksiyonlar konusunda, şansa, ihmale, dikkatsizliğe ve disiplinsizliğe kesinlikle yer verilmemeli,

2 — Bütün koruyucu önlemler birlikte ve zamanında alınmalı, titizlikle ve ciddiyetle uygulanmalı, devam ettirilmelidir.

Aşılarda beklenen yararları sağlamak için, bunlar hakkında yeterli bilgilere sahip olmak yanısıra, diğer bazı önemli noktalara dikkat etmek ve bunları yerine getirmek gerekli ve şarttır. Bunlar da;

1 — Aşılamaadan önce dikkat edilecek noktalar,

2 — Aşılama sırasında dikkat edilecek noktalar,

3 — Aşılamaadan sonra dikkat edilecek noktalar,

4 — Aşıların seçiminde dikkat edilecek noktalar.

Aşılamaadan Önce Dikkat Edilecek Noktalar

1 — Hayvanların sayısı : Aşıların miktarını belirlemede gereklidir.

2 — Hayvanların yaşı : Aşıların tip ve alt tiplerinin seçimi ve uygulama tarzının saptanmasında önemlidir.

3 — Maternal antikor durumu : Cıvcıvlik veya gençlik çağı aşılamalarında ve aşı programlarının hazırlanmasında maternal antikorların düzeyinin belirlenmesinin önemi fazladır.

4 — Revaksinasyondan önce antikor durumu : Aşıların etkin bir antikor uyarımı yapabilmesi için, kandaki homolog antikorların rolü fazladır. Bu nedenle revaksinasyondan önce antikor titresinin bilinmesi gereklidir.

5 — Birinci ve/veya ikinci aşılama durumu : Bu nokta özellikle, seçilecek homolog aşı etkeninin tip ve alt tiplerinin belirlenmesinde önemli olmaktadır.

6 — Yetiştirme yönü : Bu yönün belirlenmesi, aşı programlarının hazırlanmasında aşı ve türlerinin belirlenmesinde değeri vardır.

7 — Komşu çiftliklerdeki hastalık ve aşılama durumları : Aşı programlarının hazırlanmasında (zorunlu aşı programı) ve burada başgösteren hastalıklara karşı önlem almada yararlar sağlar.

8 — Sürünün sağlık durumu : Aşılar tam sağlıklı hayvanlara uygulanmalıdır. Endo ve ekto parazitli hayvanlara, kronik ve latent enfeksiyonlarda aşı yapılmaz.

9 — Hijyenik koşullar : Aşılamadan önce, barınakların havalandırma, ışıklandırma, rutubet, amonyak vs. durumları normal düzeye getirilmelidir. Her türlü stres faktörleri ortadan kaldırılmalıdır. Hayvanlara iyi bir bakım ve beslenme uygulanmalıdır.

10 — Yemlik ve suluklar : Bu malzeme yalnız aşılamadan önce değil, her zaman belli aralıklarla iyice temizlenmelidir.

11 — Aşılar, pis, hijyenik koşulları fena olan barınaktaki hayvanlara uygulanmamalıdır. Ayrıca çok soğuk, çok sıcak, rutubetli havalarda da aşılamalar yapılmamalıdır.

12 — Uygulama tarzı : Aşının ne tarzda uygulanacağını iyice belirledikten sonra, bunlara özgü önemli koşullar yerine getirilmelidir.

13 — Aşılamalar sabahın erken veya akşam saatlerinde yapılması, uygulama kolaylığı sağlar.

14 — Yaş grupları : Aşılanacak hayvanlar genellikle aynı yaş grupları içinde bulunmalıdırlar.

15 — Aşı uygulayıcılar : Bu kişiler aşılar ve uygulamaları hakkında yeterli bilgi ve deneyime sahip olmalıdırlar. Aşılamalar veteriner hekim kontrolünde yapılmalıdır.

16 — Hayvanlar için bir aşılama kartı tutulmalıdır.

Aşılama Sırasında Dikkat Edilecek Noktalar

1 — Aşılamalarda prospektuslara kesinlikle uyulmalı ve sapmalar yapılmamalıdır. Aksi hallerde telafisi mümkün olmayan zararlara yol açılır. Aşılamalarda zamandan ve aşılardan tasarruf edilmesi düşünülmemelidir.

2 — Uygulayıcılar temiz tulum, başlık, eldiven ve çizme (altı düz) giymelidirler.

3 — Sprey aşılamalarda aletler, enjektörlerde aşılar enjektör ve iğnelerin sterilitesine dikkat edilmeli ve içme suyu aşılamalarında da kullanılan su en iyi kalitede olmalıdır.

4 — Hayvanların yeterince aşı almaları sağlanmalıdır. Gereği kadar aşı alamayan hayvanlar duyarlı birer odak haline gelirler.

5 — Aşı materyalinde sulandırmalar uygun ve homojen tarzda yapılmalıdır. Bu konuda da prospektuslara uyulmalıdır.

7 — Aşılama sırasında acele edilmemelidir.

8 — Yarım kalmış ve sulandırıldıktan sonra 3-4 saat geçmiş aşılar tekrar kullanılmamalıdır.

9 — Boş aşı şişeleri etrafa atılmamalı, belli bir yerde toplanmalı ve imha edilmelidir.

10 — Günü geçmiş aşılar, kaçak aşılar veya şüpheli görülenler kullanılmamalıdır.

11 — Aşılar da gerekli niteliklerin bulunduğu dikkat edilmelidir.

Aşılamadan Sonra Dikkat Edilecek Noktalar

1 — Bütün stres faktörleri ortadan kaldırılmalıdır.

2 — Hayvanlara iyi bir bakım ve beslenme uygulanmalıdır.

3 — Aşılama sonu meydana gelen aşı reaksiyonlarında, hasta, enfekte veya ölenler hemen ayrılmalıdır.

4 — Aşının türüne göre yaklaşık 15-20 gün sonra, yeterli sayıda hayvandan kan alınarak antikor titresi saptanmalıdır.

5 — Solunum yolu infeksiyonu var olan hayvanlara sprey aşılaması yapılmamalıdır.

Aşıların Seçiminde Dikkat Edilecek Noktalar

- 1 — Tanınmış firmalara ait olmalıdır,
- 2 — Tanınmış firmalardan ithal edilmeli,
- 3 — Orijinal etiket taşınmalı, etiketi düşmüş, değiştirilmiş ve sonradan yapıştırılmış olmamalı,
- 4 — Kurutulmuş aşılar iyi liyofilize edilmiş olmalı, sulanmış veya kapakları açılmış olmamalı,
- 5 — Soğukta muhafaza edilmiş olmalı,
- 6 — SPF karakterindeki yumurtalardan elde edilmiş olmalı,
- 7 — Son kullanma tarihini geçmiş olmamalı ve bu tarihe dikkat edilmeli,
- 8 — İmal tarihine dikkat edilmeli,
- 9 — Bakanlıkça gerekli kontrollerin yapıldığına dair belgeler bulunmalı,
- 10 — Sulandırma sıvılarının tam, berrak olması, içinde herhangi bir yabancı madde veya tortu bulunmamalı,
- 11 — Dozlarına dikkat edilmelidir.

Yetersiz Bağışıklığın Başlıca Nedenleri

- 1 — Yüksek derecede maternal antikorların bulunması, aşıların antikor uyarımını kısıtladığı gibi, etkenin nötralizasyonuna da neden olur.
- 2 — Revaksinasyon sırasında kanda yüksek titrede homolog antikorların bulunması, aynen maternal antikorlar gibi olumsuz etkiye sahiptirler. Bu nedenle, aşılamadan önce kandaki antikorların durumu ortaya konulmalıdır.
- 3 — Hayvanların antikor dağılımının heterojen bir karakter taşıması halinde, bazı hayvanlarda yüksek bir titre oluşmasına karşın diğerleri de negatif düzeyde bir durum elde edilebilir.
- 4 — Gençler lenfoid sistemin henüz gelişmemiş olması nedeni ile antijenlere karşı iyi bir immunolojik yanıt meydana getirmezler ve bu nedenle iyi bir uyarım oluşmaz.

5 — Aşılamaların tecrübesiz ve bilgisiz kişilerce ve prospektuslarına uyularak yapılmaması olumsuz sonuçlara yol açar.

6 — Aşıların iyi karıştırılmaması sonu bazı hayvanlara daha az, diğerlerine daha fazla aşının gitmesi yine antikor titresinin heterojen hale gelmesine neden olur.

7 — Aşıların SPF karakterindeki yumurtalarda hazırlanmalarını.

8 — Aşıların iyi doze edilmemesi.

9 — Aşıların iyi liyofilize edilmemeleri.

10 — Aşıların bağışıklık, zararsızlık ve diğer kontrollerinin iyi yapılmaması.

11 — Aşıların hazırlanma, sevk ve depolama sırasında soğuk zincirin ve muhafazalarının iyi yapılamaması.

12 — Aşı susularının antijenik özelliklerinin azalması ve kaybolması.

13 — Sulandırma sıvılarının yeterli miktarda olmaması ve virüsdal madde içermesi.

14 — Aşıların sıcakta muhafazaları veya bulundurulmaları.

15 — Son kullanma tarihini aşmış aşıların kullanılması.

16 — Aşılamalarda acele edilmesi veya aşılardan tasarruf zihniyeti ile hareket edilmesi,

17 — Hayvanların tam sağlıklı olmamaları.

18 — Aşılamadan sonra hayvanların çeşitli stres faktörlerine maruz kalmaları.

19 — Uygulama tarzına ve gereklerine tam uyulmaması.

20 — Bütün hayvanların aşılanmalarını.

Diğer taraftan hayvanların korunmasında pasif bağışıklık sağlamak amacıyla aktif bağışıklık kazanmış bir canlının serumunun diğer bir canlıya verilmesi de söz konusudur. Bunlar hiperimmün serumlar ve antitoksik serumlar vs.'dir. Bu yolla sağlanan pasif bağışıklık genellikle kısa sürelidir. Bu nedenle koruyucu ya da sağaltıcı amaçla kullanılırlar.

Ayrıca, gizli infeksiyonların, portör ve reaktör hayvanların belirlenmesi için uygulanan yöntemlerde kullanılmak üzere hazırlanmış biyolojik maddeler de bulunmaktadır. Bunlar arasında Pullorum test antijeni, Mycoplasma antijeni, Tüberkülin, Mallein ve Brucellin gibi maddeler bulunmaktadır.

KAYNAKLAR

- 1 — ALOUF, J.E. (1985) : Vaccins anti-toxines. Ann. Inst. Pasteur/Microbiol., 136B: 309-321.
- 2 — ARDA, M. (1985) : Rekombinant DNA teknolojisi (konferans). Etlik Vet. Kont. Araş. Enst., Ankara.
- 3 — ARDA, M. (1985) : İmmunoloji. A.Ü. Vet. Fak. Yayın., 404. A.Ü. Basımevi, Ankara.
- 4 — ARDA, M. (1986) : Tavukların önemli hastalıkları ve korunma yolları. Afyon Yem Sanayi A.Ş. Eğitim Yayınları, I. RETMA Basımevi, Ankara.
- 5 — ARNON, R. and SELA, M. (1985) : Synthetic vaccines: present and future. Ann. Inst. Pasteur/Immunol., 136D: 271-282.
- 6 — AYDIN, N. (1978) : Adjuvantlar ve veteriner hekimlikte kullanımları. Vet. Hek. Dern. Derg., 48 (2): 13-19.
- 7 — AYDIN, N. (1987) : İmmunoloji ve seroloji ders notları. A.Ü. Vet. Fak. Ankara.
- 8 — AYDIN, N. (1984) : Kanatlı enfeksiyonlarının serolojik teşhisi amacıyla kullanılan reaktiflerin standardizasyonu ve aşı kontrolü. Etlik Vet. Kont. Araş. Enst. Derg., 5 (6-7): 138-150.
- 9 — BLACK, L. FRANCIS, J. and NICHOLLS, M.J. (1985) : Protecting young domesticated animals from infectious disease. The Vet. Ann., 25: 45-61.
- 10 — BROWN, F. (1984) : Synthetic viral vaccines. Ann. Rev. Microbiol., 3: 221-235.
- 11 — BROWN, T.D.K. (1985) : New poultry vaccines by genetic manipulation. Span, 28 (2): 68-70.
- 12 — CHEDID, L. (1985) : Adjuvants of immunity. Ann. Inst. Pasteur/Immunol., 136D: 283-291.
- 13 — DONER, F. and McDONELT, J.L. (1985) : Bacterial toxin vaccines. Vaccine, 3: 94-102.
- 14 — ESKELUND, K. (1979) : Inactivated vaccines. Zootechnica, 5: 18-22.
- 15 — KANRA, G., DİKER, S. ve CEYHAN, M. (1985) : Bakteri aşıları. Katkı, 6 (5): 341-350.
- 16 — KREAGER, K. (1985) : Good results with polyvalent marek vaccine. Misset Int. Poultry, 2 (1): 8-11.
- 17 — TIZARD, I. (1982) : An itroduction to veterinary immunology. 2ED. W.B. Saunders Comp., London.