



Review Paper / Derleme Makalesi

A NEW APPROACH FOR DEVELOPMENT OF SYNTHETIC PEPTIDE VACCINES FOR VIRAL INFECTIONS

Pelin PELİT ARAYICI*¹, Tayfun ACAR¹, Mesut KARAHAN², Zeynep MUSTAFAEVA¹

¹Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya-Metalurji Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Esenler-İSTANBUL

²Üsküdar Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Üsküdar-İSTANBUL

Received/Geliş: 07.10.2015 Accepted/Kabul: 13.01.2016

ABSTRACT

Rabies virus is the factor of rabies which is an acute and fatal infection that targets Central Nervous System (CNS). Rabies is one of the most critical diseases that spreads with zoonosis; transfer of virus to humans via animals. According to data obtained from World Health Organization (WHO) about 55,000 people lose their lives due to rabies each year. Vaccination is the only effective precaution against rabies. However because vaccines used today have a lot of disadvantage, scientists have been working to come up with an alternative to Pasteur vaccine method for a long time. Synthetic peptide vaccines, which is one of these methods, is composed out fragments of the protein structure that shows antigen properties. After the amino acid number, type and order of these fragments are determined, they are synthesized chemically and the obtained peptides can be used as a vaccine. These peptide sequences are recognized by the immune system and induce the immunity response. As it can be seen in the studies; peptide vaccines have a lot of advantages compared to traditional vaccines. Not containing live viruses, non-toxicity, non-expensive and relatively easier production technology and formulation are some of them. This is why it was thought that production of peptide vaccine for rabies will have a lot of advantages.

Keywords: Synthetic peptide vaccine, Rabies, Polymeric vaccine.

VİRAL HASTALIKLARA KARŞI SENTETİK PEPTİD AŞILARININ GELİŞTİRİLMESİ İÇİN YENİ BİR YAKLAŞIM

ÖZ

Kuduz virüsü; Merkezi Sinir Sistemi (MSS)'nin akut ve kesin öldürücü enfeksiyonu olan kuduz hastalığının etkenidir. Kuduz hastalığı, zoonoz olarak adlandırılan, çeşitli yollarla hayvanlardan insanlara bulaşan en önemli hastalıklar arasında yer almaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre kuduz hastalığı sebebiyle her sene yaklaşık 55.000 kişi yaşamını yitirmektedir. Kuduz hastalığına karşı aşılama hastalığın önlenmesinde tek etkili yoldur. Ancak günümüzde kullanılan aşılardan dezavantajlarının fazla olması sebebiyle bilim adamları, Pastör aşı yöntemine alternatif aşı yapılması için yöntemler geliştirmek üzere uzun zamandır bilimsel çalışmalar yapmaktadırlar. Bu çalışmalardan biri olan sentetik peptid aşılı, hastalık etkeninin protein yapısının antijen özelliği gösteren fragmentlerinden oluşmaktadır. Bu fragmentlerin aminoasit sayısı, türü ve sıraları belirlendikten sonra laboratuvarında kimyasal sentezleri yapılır ve elde edilen peptidler aşı olarak kullanılabilir. Bu peptid dizileri bağışıklık sistemi tarafından tanınmakta ve bağışıklık tepkisini indüklemektedirler. Bu tip aşılarla ilgili yapılan çalışmalarda da görüldüğü üzere sentetik peptid aşılardan klasik aşılarla göre bir çok avantajı bulunmaktadır. Bu avantajlar arasında, canlı virüs içermemesi, toksik olmamaları, ucuz ve daha basit teknolojik bir yöntemle hazırlanabilmeleri, formülasyonlarının basit olması sayılabilir. Bu sebeple Kuduz hastalığına karşı sentetik peptid aşılardan geliştirilmesinin birçok avantaj sağlayacağı düşünülmektedir.

Anahtar Sözcükler: Sentetik peptid aşısı, Kuduz, Polimerik aşı.

* Corresponding Author/Sorumlu Yazar: e-mail/e-ileti: pelinpelit@gmail.com, tel: (551) 728 13 70

1. GİRİŞ

Aşı; spesifik bir hastalığa karşı bağışıklık kazanılmasını veya bağışıklık düzeyinin artırılmasını sağlayan biyolojik olarak hazırlanan maddelere verilen bir isimdir [1]. Aşı olarak kullanılan maddeler doğrudan hastalık etkenlerinin inaktif (ölü) veya zayıflatılmış şekilleri, bu mikroorganizmaların antijenik yapıları ya da bunların hücre dışına saldıkları toksinleri olabilir [2]. Etken vücudun bağışıklık sistemini, etkenin yabancı olduğunu fark etmesi, onu yok etmesi gerektiği ve hatırlanması gerektiğine dair uyarmaktadır, böylece bağışıklık sistemi bu etken ile ilerleyen zamanlarda tekrar karşılaştığında onu kolay bir şekilde fark etmekte ve yok edebilmektedir [1].

İdeal aşıda bulunması beklenen özellikler; güvenilir olması, alerjik reaksiyon yapmaması, kolay uygulanabilir olması, yüksek derecede immünojenik olması, uzun süreli immünite sağlaması, raf ömrü süresince stabil olması, uzun süre saklanabilmesi, düşük maliyetli üretime sahip olması, kolay bulunabilmesi, tek dozdan sonra etkili olmasıdır [3, 4, 5].

Günümüzde aşılardan hiçbiri bu özelliklerin hepsini birlikte içermemektedir [4]. Aktif bağışıklık için kullanılan aşılardan, klasik ve biyoteknolojik aşılardan başlıca iki gruba ayrılırlar. Çalışmalarımızın da temelini oluşturan sentetik peptid aşılardan biyoteknolojik aşılardan grubuna girmektedir [5].

2. SENTETİK PEPTİD AŞILARI

Sentetik peptid aşılardan, hastalık etkeninin protein yapılarının antijen özelliği gösteren fragmentlerinden oluşmaktadır. Bu fragmentlerin aminoasit sayısı, türü ve sıraları belirlendikten sonra laboratuvar ortamında kimyasal sentezlerle yapılır ve elde edilen peptid ile hazırlanan biyokonjugatlar aşı olarak kullanılabilirler. Bu peptid dizileri bağışıklık sistemi tarafından tanınmakta ve bağışıklık tepkisini indüklemektedirler. Bağışıklık sistemini uyarma spesifik antikorların oluşturulmasına yönelik sitotoksik T hücrelerini ya da B hücrelerini kapsarken her ikisine yönelik de olabilir [5, 6].

Hastalık etkeni proteinler yüzlerce antijenik peptid epitopu içermektedir fakat hepsi gerekli değildir. Bu aşılarda kullanılan peptidler, bir antijenin belirli bir epitopunu temsil eden 20-30 amino asitten oluşan bir immünojenik peptid molekülünü oluşturmak için sentez edilmektedir. Böylece büyük proteinlerden kaynaklanan alerjik ve reaktöjenik yanıtlardan ortadan kaldırarak, uygun hücre ve humoral cevaplar aktivasyonu için yeterli kabul edilmektedir [7].

Öte yandan, peptidlerin boyutlarının küçük olması sebebiyle çoğu zaman tek başlarına immünojeniteleri zayıf kalabilmesinden dolayı güçlü bir bağışıklık tepkisinin uyarılması için, peptidlere karşı antikor oluşturmada taşıyıcı moleküller gerektirebilecektir. Bu moleküller bağışıklık sisteminin aktive olmasına destek olacağı gibi kimyasal stabilitenin artmasında da faaliyet gösterirler [6, 7].

Peptid aşılardan diğer aşılardan göre birçok avantajı bulunmaktadır. Bu avantajları şu şekilde sıralayabiliriz [5,6,8-13]:

- Diğerlerine kıyasla ucuz ve teknolojik üretim yöntemlerine sahiptirler.
- Canlı mikroorganizmaların üretilmesine gerek olmadığı için daha güvenilirdirler.
- Yüksek alerjik ve reaktöjenik özellik gösteren maddeleri içermezler. Toksik değildirler.
- Taşınması sırasında soğuk zincire gereksinim duyulmamaktadır.
- Yüksek stabiliteye ve basit aşı formülasyonuna sahiptirler.
- Farklı hastalıkların çeşitli antijenik epitoplarının aynı taşıyıcıya konjugasyonu mümkündür.
- Yapı-işlev ilişkileri bilinmektedir.
- T hücrelerinden bağımsız immün cevap oluşturabilmektedirler.

ABD Ulusal Sağlık Enstitüsü verilerine göre 2014 Mart ayında koruma ve tedavi amaçlı 452 peptid aşısının klinik çalışmaları ClinicalTrials.gov adresli veri tabanına kaydedilmiştir. Bu çalışmalardan 270 tanesi Faz I'de, 224 tanesi Faz II'de ve 12 adet çalışma da Faz III'tedir. Faz

III' de olan 12 çalışma çeşitli kanser türleri ile ilgilidir. Hepatitis B (HBV), influenza, tüberküloz, malaria, alerji hastalıkları, astım, diyabet, Alzheimer hastalıklarına karşı oluşturulan aşilar Faz I ve Faz II aşamalarındadır. Henüz lisanslı ticari bir peptid aşısı geliştirilmemiştir [6].

2.1. Sentetik Peptid Aşılarının Geliştirilmesi

Sentetik peptid aşı geliştirilmesi için aşağıdaki adımlar izlenir [14] :

1. Enfekte edici ajanın protein antijenlerinin peptid fragmentlerinin belirlenmesi ve bu peptid antijeninin tasarımının yapılması,
2. Antijenik peptid dizisinin kimyasal olarak sentezlenmesi ve eğer gerekliyse bir taşıyıcıyla konjugasyonu,
3. Laboratuvar hayvanları üzerinde immünojenite testlerinin yapılarak antikorların seçiciliğinin ve koruyucu özelliklerinin belirlenmesi,
4. Seçilen antijenlerin klinik öncesi çalışmaları,
5. Aday aşı örneklerinin üretilmesi ve geliştirilmesi için laboratuvar tekniklerinin geliştirilmesi,
6. Aday aşı örneklerinin klinik öncesi ve klinik çalışmaları.

Son adım genellikle ilgili devlet kontrol hizmetleri tarafından onaylanmış tıbbi kurallar ve yöntemsel talimatlarla belirlenmektedir [14].

3. MODEL OLARAK ALINAN KUDUZ HASTALIĞI

İnsanlık tarihinin bilinen en eski hastalıklarından biri olan Kuduz (rabies), Rhabdoviridea ailesi Lyssavirus cinsi kuduz virüsü (RABV) ile bulaşan merkezi sinir sistemini etkileyerek ölüme sebebiyet veren zoonotik bir enfeksiyondur. Tüm enfeksiyon hastalıkları içerisinde en yüksek vaka mortalite oranına sahip olan enfeksiyonlardan biridir [15-17].

Türkçe'de kuduz kelimesi hastalığın semptomlarını da ifade eden deli, kudurmuş, kontrolünü yitirmiş anlamını taşımaktadır [18]. Tarihte bu hastalık Yunan, Roma, Çin, Hindistan, Mezopotamya ve Mısır gibi bir çok kültürün eski dökümanlarında yer almaktadır. Kuduz-rabies kelimesinin kökü Sanskritçe "vahşet yapmak" manasına gelen "rabhas" kelimesine dayanmaktadır. Yunanca'da çılgınlık anlamına gelen "lyssa" veya "lytta"; Latince "rabies"; Almanca "tollwut" ve Fransızca "la rage" olarak adlandırılmıştır [19,20].

Hastalığa ait ilk bilgiler M.Ö. 23'üncü yüzyılda Eski Mezopotamya uygarlıklarından Babiller döneminde Babür Hükümdarı Hammurabi'nin çıkardığı Eshnunna Kanunlarının içinde, hastalanan hayvanlar tarafından ısırılmanın ölüme neden olacağı ve hayvanların kontrol altında tutulması gerektiği şeklinde yer almaktadır [21, 22].

1804 yılında Alman bilim adamı Georg Gottfried Zinke (1771-1813) kuduz bir köpeğin salyasını sağlıklı bir köpeğe enjekte ederek hastalığın bulaşıcı olduğunu göstermiştir. Hastalık etkeninin enjekte edildiği köpeğin yedinci günde hastalandığını, sekizinci günde yemeyi ve içmeyi reddettiğini ve onuncu gününde hastalığın semptomlarını göstermiş olduğunu kayıt etmiştir [23].

1880-1881 yılında, Fransız kimyager ve mikrobiyolog Louis PASTEUR (1822 - 1895) Victor Galtier'in başlatmış olduğu tavşanlarda kuduz çalışmalarını C. Chamberland, PPE Roux, and T. Thuillier ile birlikte takip etmiştir [24, 25]. 1881 yılında kuduzdan ölen hayvanların beyinlerinden kuduz etkenini keşfetmiş ve bu etkenin bakterilerden daha küçük olduğunu bildirmiştir [26].

Tarihte ilk kez 1884 yılında, Pasteur ve arkadaşları araştırmalarında kuduz virüsünü hayvanda pasajlarla üretmek virüsün patojenitesini değiştirmeyi başarmışlardır [18]. Bundan sonra Sokak virüsü (Street virüs) denen ve kuduz köpeklerden elde edilen virüsün diğer bir hayvana (tavşan vb.) intraserebral olarak yapılan 100 pasajdan sonra hayvandan elde edilen beyin dokuları kurutulmuştur. Bu süspansiyonlar 50'den fazla köpeğe 10 gün arka arkaya cilt altı enjeksiyonu ile verildiğinde, bu virüsün köpekleri enfekte etme yeteneğinde büyük bir düşüş görülmüştür. Bu

şekilde patogenitesinde modifikasyon meydana gelmiş virüse Pasteur, “virüs fiks (sabit virüs)” ismini , adı kuduz virüsüne ise “sokak virüsü” adını vermiştir. Pasteur’ün elde ettiği bu aşı, canlı attenuue bir virüs aşısıdır [18, 24, 26].

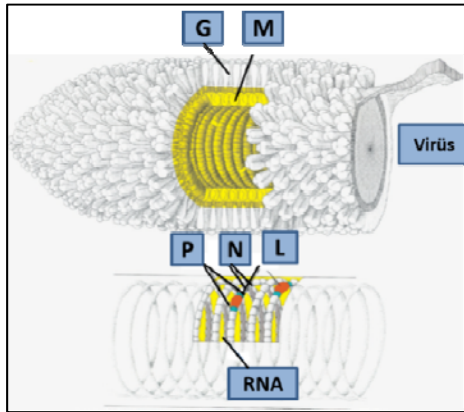
Pasteur’un başarılarının ardından tüm dünyada bu aşı kullanılmaya başlanmıştır. 1 Mart 1886’ya kadar Avrupa, Rusya ve Amerika’dan toplam 350 hastanın maruziyet sonrası tedavi olduğu, birkaç ay sonra tedavi sayısının 726’ya yükseldiği açıklanmıştır [24, 27, 28].

3.1. Virüsün Özellikleri

Kuduz hastalığının etkeni olan kuduz virüsü, Mononegavirales sınıfı Rhabdoviridae familyasındandır. [29, 30].

Nörotropik bir virüs olan kuduz virüsü ortalama 75 nm çapında ve 180 nm boyunda silindirik yapıda, bir ucu düz, bir ucu yuvarlak mermi veya koniye benzemektedir. Yüzeyinde düzenli aralıklarla yerleşmiş bulunan glikoprotein yapısında dikenimsi çıkıntıları konak hücreye virüsün tutunmasını sağlar. Segmentsiz, tek sarmallı, negatif polariteli, 4.6x106 kDa ağırlığında ve 12 kb uzunluğunda bir RNA genomudur. Fonksiyonel ve yapısal olmak üzere iki komponenti vardır. Yapısal komponenti iki katmanlı, 7-10 nm kalınlığında lipoprotein zarf, fonksiyonel komponenti ise içte helikal olarak paketlenmiş olan genomik RNA ve bununla ilişkili proteinler oluşturur. Kimyasal yapısının yaklaşık % 67’si protein, % 4’ü RNA, % 26’sı lipidler ve % 3’ü karbohidratlardan oluşur [18, 31-34].

Virüs RNA 5 önemli proteini kodlar. Bunlar: nükleoprotein (N protein), fosfoprotein (P protein), matriks protein (M protein), glikoprotein (G protein), RNA-bağımlı bir RNA polimeraz (L protein)’dir (Şekil 1) [35, 36].



Şekil 1. Kuduz virüsü ve proteinlerinin şematik gösterimi [36,37]

3.2. Patogenez

Kuduz daima ölüme sebebiyet veren merkezi sinir sistemi hastalığıdır [35]. Patolojik olarak kuduz spinal kordun ve beynin nöronal dejenerasyon ile ilerleyen bir beyin iltihabıdır. Hayvanın ısırması ile vücuda giren virüs nikotinik asetilkolin reseptörlerini kullanarak çizgili kas hücrelerine girer ve burada çoğalmak ve sinir uçlarıyla birleşmek için yavaşça replike olur. Buradan sinir dokusuna geçer ve periferik sinirler boyunca spinal korddan merkezi sinir sistemine girer. Merkezi sinir sistemine (MSS) ulaştığında burada MSS iltihabına sebebiyet verir. Bu enfeksiyon sonucunda virüs periferik sinirler aracılığıyla sentrifugal olarak gözyaşı bezi, tükürük bezi dahil olmak üzere tüm vücuda ve duyu sinirlerine yayılır [27, 38-40].

3.3. Bulaşma Yolları

Hastalığın bulaşmasındaki olası yollar aşağıda verilmiştir:

Doğrudan temas: Kuduzun en yaygın bulaşma şekli tükürüğünde kuduz virüsü içeren hayvanın bir başka hayvanı veya insanı ısırmasıdır. Tükürük ya da salyanın açık yaradan veya mukoza yüzeyinden (göz, burun) girmesiyle virüs organizmaya geçebilmektedir. Kuduz virüsü sağlam deriye nüfus edemez [41, 42].

Yeme ve içme yoluyla: Kuduz virüsüne maruz kalmış hayvanın çiğ etinin yenmesi ve pastörize edilmeden sütünün içilmesinin hastalığın bulaşmasında rol oynadığı belirtilmektedir. Ayrıca emziren bir anneden bebeğine de sütü yoluyla bulaştığına dair bir vaka da rapor edilmiştir [43, 44].

Aerosol yoluyla: Bu şekilde bulaşma çok nadirdir. Kuduz virüsü ile çalışılan laboratuvarlarda ve yarasaların yoğun olduğu mağaralarda görülebilmektedir. Laboratuvarlarda fixed virüsün homojenizasyonu sırasında aerosolleşmiş kuduz virüsünün solunması iki insanda kuduz hastalığına sebep olmuştur. Enfekte yarasaların yaşadığı mağaralarda aerosol enfeksiyonla yaban hayatı araştırmacıları için bir maruziyet yolu olarak şüpheli olmuştur [41, 44-46].

İnsandan insana organ nakli yoluyla: Kornea nakli yoluyla kuduz hastalığının insandan insana bulaştığı sekiz olgu Amerika Birleşik Devletleri, Fransa, Tayland, Hindistan ve İran'da belgelenmiştir. Buna ek olarak, yedi insandan insana diğer organ doku nakli (örneğin karaciğer, böbrek, akciğer, pankreas, iliak arter) yoluyla kuduz bulaştığı da bildirilmiştir. Geçişin organ nakli yolu ile olduğu otopsi sonucunda anlaşılmıştır ve ABD'de belgelenmiştir. Nakil dışında insandan insana kuduz hastalığının bulaştığına dair rapor edilen bir vaka yoktur [21,40, 41, 47].

Transplasental aktarım ile: Hamile olan anneden karnındaki bebeğine kuduz hastalığının geçtiğine dair tek rapor edilen vaka Türkiye'dendir. Bu vakada, hamile bir kadın erkek bebeğinin doğumundan 34 gün önce bir köpek tarafından ısırılmıştır. Bebek doğumundan 40 saat 30 dakika sonra hayatını kaybetmiştir ve laboratuvar sonuçları hem annenin hem de bebeğinin kuduz olduğunu açıklamıştır [41, 48, 49].

Hastalığa ait klinik dönemler; inkübasyon (kuluçka) dönemi, prodromal dönem, akut nörolojik dönem, koma ve ölüm olmak üzere 5'e ayrılır [50].

3.4. Tanı

Hastalığın tedavisi yoktur, tedbir alınmadığı takdirde daima ölümle sonuçlanır. Aşılamayla alınan tek önlem ise hastalığı bulaştıran hayvanın gerçekten kuduz olup olmadığının en kısa zamanda ve en güvenilir yöntemle ortaya çıkmasına yani tanısına bağlıdır [51].

Kuduz tanısının temel ilkeleri antijen ve antikor tespitine dayanmaktadır. Bu tanıda kullanılan yöntemler klinik tanı ve laboratuvar tanı olmak üzere 2'ye ayrılır [41].

Klinik Tanı: Gelişmekte olan ülkelerde kuduz hastalığının tanısı imkanların eksikliği nedeniyle klinik belirtileri, maruz kalma geçmişi ve epidemiyolojik bilgilere dayanılarak yapılmaktadır. Birincil tanı klinik bulgulara bağlı olsa da daha hızlı ve doğru tanı için laboratuvar testlerinin kullanılması avantaj sağlamaktadır [41,52].

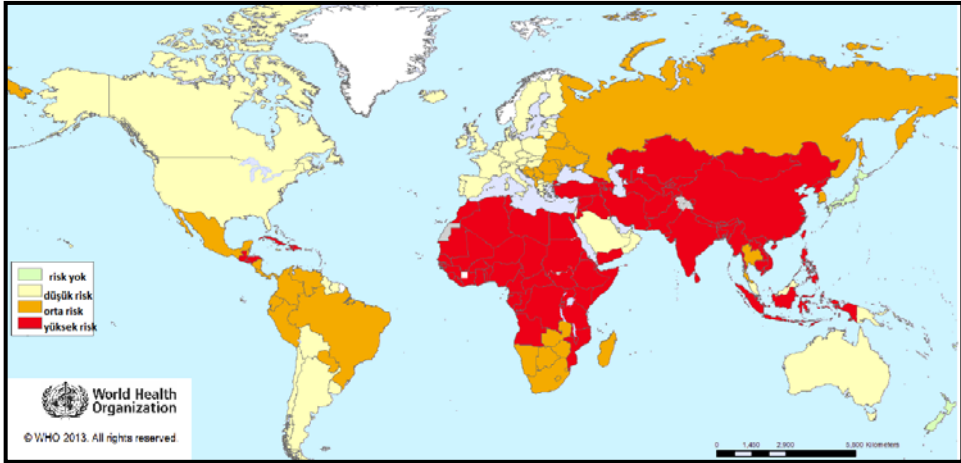
Laboratuvar Tanı: Sella boyama tekniği ile Negri cisimciklerinin tespiti kuduz tanısında kullanılan ilk metottur. WHO 2011 yılında Sella tekniği yerine son derece hassas ve modern olarak geliştirilen bazı yöntemlerin kullanılması gerektiğini belirtmiştir. WHO'nun önerdiği yöntemlerden bazıları şunlardır [41, 53, 54]:

- Floresan Antikor Testi (FAT),
- Hücre kültürü ve Fare İnokülasyon Testi (FİT),
- İmmunohistokimyasal Test,
- Serolojik Testler (Floresan Antikor Virüs Nötralizasyon Testi),
- Moleküler Teknikler (Polimeraz zincir Reaksiyonu (RT-PCR), PCR-ELISA, real-time PCR).

3.5. Dünyada Kuduz

Dünya çapında en az 55000 kişinin ölümünden sorumlu olan kuduz hastalığı halk sağlığı açısından önemli bir tehdit oluşturmakla beraber, tedavi ve kontrol harcamaları yılda 500 milyon doları aşarak ülkeler üzerine büyük ekonomik yük uygulamaktadır [55-57].

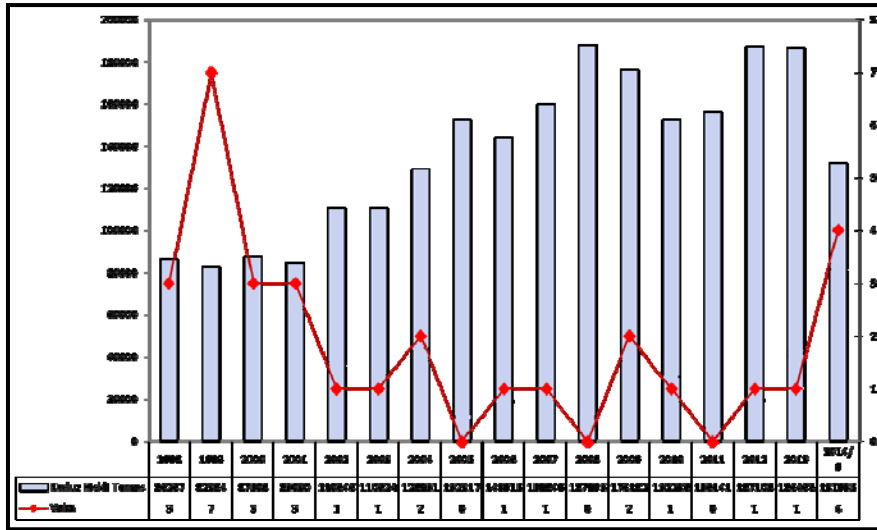
Antartika hariç tüm dünyada görülen kuduz hastalığına bağlı insan ölümlerinin %95'i Asya ve Afrika da meydana gelmektedir. Her yıl Asya da 31000, Afrika da ise 24000 kişinin kuduzla yakalandığı tahmin edilmektedir. DSÖ'nün 2014 verilerine göre; kuduz şüpheli hayvanlar tarafından ısırılanların % 40'ı 15 yaş altı çocuklardır. İnsan kuduzuna bağlı ölümlerin en sık kaynağını köpekler oluşturmaktadır ve tüm dünyada hayvan olgularının % 54 'ü köpekler, % 42'si vahşi hayvanlar, %4'ü yarasalar tarafından meydana gelmektedir [58, 59]. Şekil 2'de dünyada kuduz risk bölgeleri gösterilmiştir.



Şekil 2. Dünyada kuduz risk bölgeleri [60]

3.6. Türkiye'de Kuduz

Ülkemiz halen kuduz yönünden endemik bir bölgedir. Ülkemizde yılda yaklaşık 180.000 kuduz riskli temas bildirim yapılmakta olup yılda ortalama 1-2 kuduz vakası görülmektedir. Kuduz, Sağlık Bakanlığı tarafından bildirilen raporlara göre son yıllarda azalma göstermesine karşın Türkiye'de hala halk sağlığı açısından önemli bir risk teşkil etmektedir. Ülkemizde 1980-2006 yılları arasında toplam 247 kuduzla ilgili ölüm olgusu bildirilmiştir. Son yıllarda insan kuduz olgularındaki bu sayı azalsa da kuduz riskli temaslarda bu azalma görülememektedir [16, 40, 59]. Kuduz riskli temas ve kuduz vakalarının 1998-2014 yılları arasındaki dağılımı Şekil 3'de gösterilmiştir.



Şekil 3. Kuduz riskli temas ve kuduz vakalarının yıllara göre dağılımı [61]

Türkiye’de kuduz hastalığının hayvanlar arasında yayılmasında esas rol oynayan evcil köpeklerdir. Bu hayvan türünde enfeksiyonun artması, diğer hayvan türleri arasında kuduzun yayılma hızını arttırmaktadır [62, 63].

Ülkemizde vahşi hayvanlardan kurt, kıvr kurdu, tilki, çakal, yaban kedisi, kokarca, gelincik ve evcil hayvanlardan köpek, kedi, sığır, koyun, keçi ve at kuduzla yakalanma olasılığı olan hayvan türleridir. Hayvan türlerine göre 1991-2010 yılları arasındaki Türkiye’deki kuduz vakaları göz önüne alındığında vakaların % 94,7’sini evcil hayvanların, % 5,3’ünü yabani hayvanların oluşturduğu belirtilmiştir [64- 66]. Türkiye köpek kuduzunun hala görüldüğü ve insan kuduzu açısından köpek kuduzunun risk taşıdığı tek Avrupa ülkesidir [67, 68].

2014 yılında Doğubayazıt’ta 2 kişi köpek tarafından ısırılarak, Yozgat’ta da 1 kişi tilki tarafından ısırılarak kuduz hastalığına yakalanmış ve hayatlarını kaybetmişlerdir [61].

3. KUDUZ AŞILARI

Mevcut kuduz aşılardan en çok bilinenleri gruplar halinde sınıflandırabiliriz:

1. Sinir dokusundan hazırlanan aşılarda

a) Semple tipi aşı: Komplikasyonlarının fazla olması sebebiyle ülkemizde 1996 yılında tamamen kullanımdan kalkmış olan bu aşı tavşan, koyun ve keçi gibi hayvanların beyin dokusu ve spinal kord dokusundan geliştirilmiştir. İmmünojenitesi düşüktür, bu sebeple çok doz uygulanması gerekmektedir. Asya ve Afrika’da ucuz olması nedeniyle hala kullanılmaktadır [27, 69, 70].

b) Meme emen fare beyin dokusundan hazırlanan aşılarda (Suckling mouse brain-SMB): Yavru fare beyinlerinde kültüre edilen aşılarda dünyanın bazı ülkelerinde ekonomik sebepler ile kullanılmaya devam edilmektedir [27, 70].

2. Kanatlı hayvan embriyosunda hazırlanan aşılarda: Ördek ve civciv embriyonunda üretilen virüsün inaktive edilmesiyle elde edilir. Yeterli özgül antikor düzeyi sağlanamadığı için 1980’li yıllarda terkedilmiştir, ülkemizde hiç kullanılmamıştır [27, 52, 70].

3. Doku kültürlerinden hazırlanan aşılarda: Pürifiye inaktive edilmiş aşılardır.

Bu aşılardan en çok kullanılanı HDCV Aşısıdır. RVA, PCEC, FBKC, PVRP ve FRLCL lisans almış ve etkinlikleri HDCV'ye yakın veya eşdeğer olarak değerlendirilmiş aşılardır [27, 52]:

-HDCV (Human Diploid Cell Vaccine): İnsan diploid hücre aşısı (Human diploid cell vaccine-HDCV) temel aşı olarak kabul edilmekte ve diğer aşılardan etkinlik ve güvenilirliğinin karşılaştırılmasında referans aşısı olarak kullanılmaktadır Amerika, Avrupa, Çin, Tayland ve Türkiye'de kullanılmaktadır. Erkenden ve yüksek düzeyde antikor yanıtı geliştirmektedir. Üretim yönteminin zor olması, çok yüksek bir maliyete sahip olması ve bir kaç doz uygulama gerektirmesi bu aşının dezavantajlarından [27, 52, 69-71].

Ayrıca son yıllarda geliştirilmiş olan ve insanlar için tehlikeli olup sadece vahşi yaşamdaki hayvanlarda etkili olan V-RG rekombinant aşılarda da bir çok dezavantaja sahiptir. Modifiye canlı virus aşılarda için gerekli güvenlik gereksinimlerinin çoğunun rekombinant aşılarda için de geçerli olması, bunların ticari olarak geliştirilmesi aşamasında maliyetinin yüksek olması, tek başına yeterli immun yanıt oluşturamaması ve bunun sonucunda zayıf immun yanıt meydana gelmesi ve toksik özellikte olmaları bu dezavantajlar arasında sayılabilmektedir [27, 52, 69, 72-78].

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Bu derlemenin amacı, Kuduz hastalığı ve bu hastalığa karşı aşı geliştirilmesi hakkında bilgi vermektir. Kuduz hastalığına karşı aşılamada hastalığın önlenmesinde tek etkili yoldur. Sonuç olarak kuduz hastalığına karşı mevcut aşılardan dezavantajları ve henüz etkin bir aşı geliştirilememesi; Kuduz hastalığına karşı sentetik peptid aşılardan geliştirilmesinin birçok avantaj sağlayacağını düşündürmektedir.

Acknowledgement / Teşekkür

Bu çalışma Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'nün 2013-07-04-KAP07 nolu "Viral Enfeksiyonlardan Koruyucu Yeni Nesil Peptid Aşı Modellerinin Geliştirilmesi" projesi tarafından desteklenmiştir.

REFERENCES / KAYNAKLAR

- [1] Sezer E., "Tıbbi Bilişim Standartları ve Anlamsal Web Teknolojileri Temelli Ulusal Aşı Bilgi Sistemi", Ege Üniversitesi, Bilgisayar Mühendisliği Anabilim Dalı, 2014.
- [2] Altuğ N., Özdemir R., Cantekin Z., "Ruminantlarda Koruyucu Hekimlik: I. Aşı Uygulamaları", Erciyes Üniv Vet Fak Derg., 10(1): 33-44, 2013.
- [3] Yadav D.K., Yadav N., Khurana S.M.P., "Vaccines: Present Status and Applications, in Animal Biotechnology: Applications and Concerns", 491-508, 2014
- [4] Dayan, S., Erişkin İmmünizasyon, Available from: <http://www.dicle.edu.tr/Contents/99109218-e611-4d12-9b81-19161e1b28ee.pdf>, [1 Ekim 2015].
- [5] Arda M., Temel Mikrobiyoloji, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, 1985.
- [6] Moisa A.A., Kolesanova E.F., "Synthetic Peptide Vaccines", Insight and Control of Infectious Disease in Global Scenario, Editor: P.K. Roy, 201-228, 2012.
- [7] Li W., et.al., "Peptide Vaccine: Progress and Challenges", Vaccines, 2(3): 515-536, 2014.
- [8] Rahman Q.K., "Heat Shock Proteins As Vaccine Adjuvants", Doctoral Thesis, Stockholm University, Department of Immunology, The Wenner-Gren Institute, 2005.
- [9] Mustafaeva M., Mustafaeva Z., "Novel polypeptide-comprising biopolymer systems", Technology and Health Care, 10(3):217-226, 2002.

- [10] Özdemir Ö.Z., Karaha, M., Karabulut E., et.al., “Characterization of Foot-and-Mouth Disease Virus's Viral Peptides with LC-ESI-MS”, *Journal of The Chemical Society of Pakistan*, Vol 32, Issue 4, 531-536, 2010.
- [11] WHO., “Guidelines for the production and quality control of synthetic peptide vaccines”, WHO Technical Report Series, No: 889, 1999.
- [12] Eroğlu İşcanı B., Kılınc Budama Y., Mustafaeva Z., “Bioconjugation of Hepatitis B antigenic peptide with polymeric carriers through various carbodiimide chemistry”, *Turkish Journal of Biochemistry*, 36, 3, 222-229, 2011.
- [13] Yang D., Holt E.G., Rudolf P. M., et.al., “Peptide Vaccines”, *New Vaccine Technologies*, ed: Ellis. W. R. 2001. Texas USA: Eureka.com, 2001.
- [14] Moisa A.A., Kolesanova E.F., “Synthetic peptide vaccines”, *Biochemistry (Moscow) Supplement Series B: Biomedical Chemistry*, 4(4): 321-332, 2010.
- [15] Oluwayelu D.O., Adebisi A.I., Ojore O.G., “A survey of rabies virus antibodies in confined, hunting and roaming dogs in Ogun and Oyo States, Southwestern Nigeria”, *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 5(1):17-21, 2015.
- [16] Tunç N., “The evaluation of the patients who admitted to a regional hospital emergency service with suspect of rabies”, *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 3(4):383-386, 2012.
- [17] Nwosu C., Tekki I.S., Okewole P.A., “Challenges and Prospects of Anti-Rabies Vaccines Production in Nigeria”, *Journal of Vaccines & Vaccination*, 04(08):212, 2013.
- [18] Gönen, İ., “Türkiye’deki Hekimlerin Kuduz Hastalığıyla İlgili Bilgi ve Tutumlarının Değerlendirilmesi”, *Uzmanlık Tezi*, Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İstanbul, 2010.
- [19] Vural S.A., “Köpeklerde Kuduzun Tanısında Histopatolojik, İmmunoperoksidaz ve İmmunofloresan Yöntemlerin Karşılaştırılması”, *Doktora Tezi*, Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 1997.
- [20] Jackson A.C., “Rabies”, *Handb Clin Neurol*, 123: 601-18, 2014.
- [21] Kanra G., Kara A., “Kuduz: patogenezi, tanı ve profilaksisi”, *Hacettepe Tıp Dergisi*, 32(2): 114-124, 2001.
- [22] Tierkel, E.S., (1975). “Canine Rabies”, *The Natural History of Rabies*, 123-137.
- [23] Steele J.H., “History of Rabies”, *The Natural History of Rabies*, G.M. Baer, Editor. 1975.
- [24] Pearce J., “Louis Pasteur and Rabies: a brief note”, *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 73(1): 82-82, 2002.
- [25] Bazin H., “Pasteur and the Birth of Vaccines Made in the Laboratory”, *History of Vaccine Development*, Editor: S.A. Plotkin, 33-55, 2011.
- [26] Omurtag C., “Mikrobiyoloji (Özel ve Genel Viroloji)”, Vol. 26., 1 Baskı, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, 1973.
- [27] Gençer S., “Kuduz ve Tetanoz Profilaksisi”, *İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri*, 61: 223-234, 2008.
- [28] Melikoğlu B., Basagaç Gül R.T., Özkul T., “Paul Ambroise REMLINGER: a Pasteurien in Turkey and his studies on rabies”, *Revue Méd. Vét*, 160(7):374-377, 2009.
- [29] Kuhn J.H., et.al., “Nyamiviridae: proposal for a new family in the order Mononegavirales”, *Arch Virol*, 158(10):2209-26, 2013.
- [30] Simani S., et.al., “Epidemiological Survey Of Different Rabies Virus Strains In Iran”, *J. Sci. I. R. Iran*, 12(4):315-319, 2001.
- [31] Schaeren, M., “Proteomics Of Pseudounipolar Neurons To Determine The Differences In Microtubular Transport Molecules In The Axon And Dendritic Axon or A Hitchhikers Guide To The Central Nervous System”, *Ghent University, Faculty Of Veterinary Medicine*, 2011.
- [32] Geo F. B., et.al., “Rabies, Slow Virus Infections, and Prion Diseases”, *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology*, 575-586, 2012.

- [33] Özkütük N., “İnsan Diploid Hücresi Kuduz Aşısı (HDCV) ile İkinci Kuşak Hücre Kültürü Kuduz Aşılarının Etkinliklerinin Karşılaştırılması”, Doktora Tezi, Celal Bayar Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2002.
- [34] Bansal K., Singh K.K.C., “Antemortem Diagnosis of Rabies From Skin: Comparison of nested RT-PCR with TaqMan real time PCR”, *Braz J Vet Pathol*, 5(3):116-119, 2012.
- [35] Metlin A., “Genetic characteristics of field and attenuated rabies viruses and molecular epidemiology of rabies in Finland and Russia”, Doctoral Thesis, University of Helsinki, Department of Basic Veterinary Sciences, 2008.
- [36] Wunner W.H., Conzelmann K.K., “Rabies Virus”, Rabies, 3. Baskı, Oxford, UK: Acad Press/Elsevier, 17-60, 2013.
- [37] Arayıcı P. P., “Koruyucu Yeni Nesil Peptid Aşı Modelleri: Viral Kuduz Hastalığı Peptidlerinin Çeşitli Adjuvantlarla Biyokonjugatlarının Geliştirilmesi”, Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2015.
- [38] Turgut M., “Rabies and rabies vaccine”, *Journal of Pediatric Infection*, 2(2): 20-5, 2013.
- [39] Jackson A.C., “Current and future approaches to the therapy of human rabies”, *Antiviral Res*, 99(1): 61-7, 2013.
- [40] Turgut S.Ş., “Kemalpaşa’da Kuduz Riskli Temas Olgularında Profilaksi Yaklaşımı Uygulanmasının Değerlendirilmesi”, Yüksek Lisans Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2010.
- [41] Tenzin, “Studies on the Epidemiology and Control of Rabies in Bhutan”, The University of Sydney, Doctoral Thesis, Farm Animal and Veterinary Public Health Faculty of Veterinary Science, 2012.
- [42] Panichabhongse P., “The Epidemiology of Rabies in Thailand”, Massey University, Master of Veterinary Studies, 2001.
- [43] Prevention C.D.C., “Mass treatment of humans who drank unpasteurized milk from rabid cows—Massachusetts”, 1996-1998. *MMWR. Morbidity and mortality weekly report*, 48(11):228, 1999.
- [44] Dutta T. K., Gotekar L.H., Sahoo R., “Rabies - An Update, The Association of Physicians of India Medicine Update”, Editor: D.S.B. Gupta, 680-683, 2005.
- [45] Winkler W.G., et.al., “Airborne rabies transmission in a laboratory worker”, *Jama*, 226(10): 1219-1221, 1973.
- [46] Johnson, N., Phillipotts R., Fooks A.R., “Airborne transmission of lyssaviruses”, *J Med Microbiol*, 55(Pt 6): 785-90, 2006.
- [47] Arjun Srinivasan M.D., et.al., “Transmission of Rabies Virus from an Organ Donor to Four Transplant Recipients”, *The New England Journal of Medicine*, 1103-1111, 2005.
- [48] Sipahioğlu U., Alpaut S., “Transplacental rabies in humans”. *Mikrobiyoloji bülteni*, 19(2): 95-99, 1985.
- [49] Wilkerson J.A., “Rabies: epidemiology, diagnosis, prevention, and prospects for worldwide control”, *Wilderness & Environmental Medicine*, 6(1): 48-96, 1995.
- [50] Rupprecht C.E., Hemachudha T., “Rabies in Infections of the Central Nervous System”, Editors: W. Michael Scheld, Richard J. Whitley, and C.M. Marra, 243-260, 2004.
- [51] Vural S.A., “Köpeklerde kuduzun tanısında histopatolojik, immunoperoksidaz ve immunofloresan yöntemlerin karşılaştırılması”, *Selçuk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 15(2): 35-50, 1999.
- [52] Büke M., “Kuduz”, Available from: <http://infek.med.ege.edu.tr/dersnotlari/kuduz.pdf>, [14 Aralık 2014].
- [53] Gürçay M., Parmaksız A., Kılıç A., “Doğal Olarak Enfekte Olmuş Farklı Tür Hayvanlardan, Post-Mortem Olarak Elde Edilen Beyin Numunelerinde, Klasik Kuduzun Rutin Laboratuvar Teşhisinde Real Time RT-PCR Testinin Değerlendirilmesi”, *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 20(4):577-581, 2014.

- [54] Yoldaş A., ve diğerleri, “Sığırlarda Kuduz Hastalığının Teşhisi ve Kuduz Virüsünün Anatomik Lokalizasyonunun Real Time PCR ile Belirlenmesi Üzerine Karşılaştırmalı Çalışmalar”, *Dicle Üniv Vet Fak Derg*, 2(2): 42-[50], 2009.
- [55] Beyer H.L., “Epidemiological models of rabies in domestic dogs: dynamics and control”, PhD Thesis, University of Glasgow, Faculty of Biomedical and Life Sciences, 2010.
- [56] Mshelbwala P.P., “A Case of Rabies in One Month Old Kittens in South East Nigeria”, *Journal of Veterinary Science & Technology*, 05(02), 2014.
- [57] Mengesha A., “Safety and Potency Test for PV and ERA Based Cell Culture Anti-Rabies Vaccines Produced in Ethiopia”, *Journal of Vaccines & Vaccination*, 05(04), 2014.
- [58] WHO, (2014) “Rabies”, Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs099/en/>, [1 Ekim 2015].
- [59] Sağlık Bakanlığı, (2014), “T.C. Kuduz Saha Rehberi”, Available from: http://www.tkhk.gov.tr/1949_-kuduz-saha-rehberi-, [1 Ekim 2015].
- [60] WHO, (2014), “Vaccine-preventable diseases and vaccines”, Available from: http://www.who.int/ith/ITH_chapter_6.pdf, [1 Ekim 2015]
- [61] Hakyemez İ.N., (2014) “Kuduz İnsan Boyutu”, Available from: <http://www.drinh.com/files/Kuduz.--nsan-boyutu.ppt>, [14 Aralık 2014].
- [62] Gürçay M., ve diğerleri, “Türkiye’nin Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerinde Hayvan Kuduzunun Epidemiyolojisi”, *F.Ü. Sağ. Bil.Vet. Derg*, 25(2): 61-66, 2010.
- [63] Yılmaz, F., “Evaluation of Cases with Rabies Risk Presenting to Emergency Department”, *Journal of Clinical and Analytical Medicine*, 5(1), 2014.
- [64] Tülek P.D.N., (2014) “Türkiye’de Kuduz” , XVI.Klimik Kongresi, Available from: <http://www.klimik.org.tr/wp-content/uploads/2013/03/Prof-Dr-NeclaTulek-Turkiyede-Kuduz.pdf>, [1 Ekim 2015].
- [65] Hatipoğlu Ç.A., (2014), “Kuduz Riskli İsrıklar ve Profilaksi”, Available from: <http://cocukaciltpkongresi.org/2014sunu/28HATIPOGLU.pdf>, [14 Aralık 2014].
- [66] Karadağ, M. ve diğerleri, “Bursa Yıldırım ilçesinde kuduz riskli temas bildirimlerinin değerlendirilmesi”, *Türkiye Aile Hekimliği Dergisi*, 18(3): 116-120, 2014.
- [67] Kilic B., ve diğerleri, “An important public health problem: rabies suspected bites and post-exposure prophylaxis in a health district in Turkey” *Int J Infect Dis*, 10(3): 248-54, 2006.
- [68] Greene, C.E., Rupprecht, C.E., “Rabies and Other Lyssavirus Infections”, *Infectious Diseases of the Dog and Cat*, 3. Baskı, Editor: C.E. Greene, 2006.
- [69] Dede T., Kocabaş E., “Dünyada ve Ülkemizde Henüz Çözülmemiş Bir Halk Sağlığı Sorunu: Kuduz”, *J Pediatr Inf*, 3: 109-116, 2008.
- [70] Ünal, H. “Kuduz Profilaksisi ve Tedavisi”, Available from: http://www.infeksiyon.org/images/file_upload/c2aad159311c682fbfeba08ee7782141Z847K5.pdf, [14 Aralık 2014].
- [71] Glück R., Keller H., Mischler R., et.al., “New Aspects Concerning the Immunogenicity of Rabies Vaccines Produced in Animal Brains (Duck Embryo)”, *Rabies in the Tropics* pp 181-188.
- [72] Plotkin A.S., “Rabies”, *Clinical Infectious Diseases* ;30:4–12, 2000.
- [73] Verma S.R., “Animal Biotechnology: Applications and potential Risks”, *Biotechnology in Functional Foods and Nutraceuticals*, editör: Debasis Bagchi, Francis C. Lau, Dilip K. Ghosh; 219-250, 2010.
- [74] Bell J.G., “A Comparison of the Different Vaccines Available for the Control of Newcastle Disease in Village Chickens”, In: Alders R.G., Spradbrow P.B. (eds.): *SADC Planning Workshop on Newcastle disease control in village chickens. Proceedings of an International Workshop*, Maputo, Mozambique, 6-9 March, ACIAR Proceedings, No. 103: 56–60, 2000.
- [75] Akbuğa J., “Farmasötik Biyoteknoloji Ürünleri”, *MİSED*, 3(4):54-62, 2002.

- [76] Okonko I., Eyarefe O.D., et.al., “Rabies Vaccines: Its Role, Challenges, Considerations and Implications for the Global Control and Possible Eradication of Rabies”, *Int. J. Anim. Veter. Adv.*, 2(4): 104-129, 2010.
- [77] Paolazzi et al., “Rabies Vaccine”, *Molecular Biotechnology*, Volume 11, 137-147, 1999.
- [78] WHO, (2015) “Recombinant vaccines for oral immunization of wildlife”, Available from: <http://www.who.int/rabies/vaccines/recombinant/en/> , [1Ekim 2015].