

DOSYA/DERLEME**TÜRKİYE'DE AŞI ARAŞTIRMALARI***Erkan ÖZCENGİZ**

(Bin yılın en önemli buluşlarından biri olan aşılardan, keşfedildiği ilk dönemde toplum ve devlet hayatımıza girişi dünyaya örnek çalışma ve girişimlerle doludur. Türkiye'nin bu alanda dünyada hak ettiği yeri ve prestiji tekrar alması en büyük idealimizdir.)

18. yüzyılda Osmanlı'da geleneksel olarak uygulanan çiçek aşılmasının, o dönemler de başta İngiltere olmak üzere Avrupa'da önemli oranda ölümlere neden olan çiçek hastalığına karşı korunma fikri olarak Avrupa'ya öğretilmesi, tüm dünyaya çiçek hastalığından kurtulmanın yollarını açmıştır. Tabi ki bu yol aynı zamanda insanlık tarihindeki en önemli buluşlardan biri olan aşılardan ortaya çıkmasını da sağlamıştır. 1713'te Osmanlı'da çiçek aşısı uygulaması üzerine ilk makale, latin asıllı Emanuel Timonius tarafından latince yazılmış ve bu yazıda Timonius, Türk Usulü Çiçek Aşısının Çin'de, Çerkezler'de, Gürcüler'de ve diğer Asya ülkelerinde uygulandığından söz etmiştir. Bu ilk bilimsel yazı 1727'de Aubry de la Montraye'nin Seyahatnamesinin 2. cildinde yayımlanmıştır (**Terzioğlu, 1984**). Osmanlı'daki aşı uygulama geleneğinin İngiltere'ye 1717 Nisan'ında zamanın İngiliz elçisinin eşi Lady Mary Montagu tarafından duyurulması dünyadaki modern aşı gelişimi sürecinin başlaması yönünde bir ilk adım olmuştur. 1798'de İngiltere'de Edward Jenner'in inek çiçeğine (cowpox) yakalanan köylülerin insan çiçek hastalığına (smallpox) yakalanmadıklarını gözleyerek inek çiçeği irinlerini aşı olarak kullanıp koruyuculuğunu göstermesi ise aşı biliminin (vaccinology) temelini atılmasını da sağlamıştır.

Tüm dünyada kullanılmaya başlayan Jenner aşısı (cowpox) 1801'de Osmanlı Devletinde de uygulanmaya başlanmıştır. Daha sonra yabancı ülkelerden getirilen çiçek aşısının yerine yerlisinin hazırlanıp kullanılması için ilk girişim ise 1811'de Şanizade Ataullah Efendi tarafından yapılmış ve önce Ayazağa köyünde sık görülen çiçek lezyonlarından alınan madde ile, sonra da insandan insana bulaştırma ile binlerce insan aşılanmıştır. Şanizade Ataullah Efendi bu çalışmalarına dayanarak Avrupa'nın bazı şehirlerinde olduğu gibi bizde de bir aşı müessesesi gerekliliğini II.Mahmut'a bildirmesine karşın bir sonuç alamamıştır. Bu dönemde çiçek aşısı yurt dışından getirilmeye devam edilmiş ve zaman zaman da bu aşılardan etkisinin kaybolduğu gözlenmiştir. 1890'da Dr. GB Violi danalardan çiçek aşısı hazırlama çalışmaları için "Establishment Vaccinogene" adını verdiği ilk ve özel bir müesseseyi kurmuştur (**Unat, 1971, Dramur, 1997**). Bu yönde ilk devlet kuruluşu ise 1892'de İstanbul'da kurulan "Telkikhane-i Osmani"dir.

Telkikhhanede çiçek aşısı üretimi 1934 tarihine kadar devam etmiş ve bu dönemde Paris Enstitü Pasteur'de Camus'un Şerefeddin Mustafa'ya üretim ve bakteriyolojik kontroller ile ilgili verdiği eğitim müesseseye büyük katkı sağlamıştır. Çiçek aşısı üretiminde zamanla virusun zayıflaması nedeniyle yapılan tavşan pasajlarında virusun bizdeki yerli tavşanlarda iyi reaksiyon vermemesi üzerine Şerefeddin Mustafa'nın virus canlandırması için 5 aylık merkep yavrularını denemesi ve çok iyi sonuç alması önemli bir gelişme olmuştur. Bu yöntemle devam edilen aşı üretimi için, gerek Telkikhane'de gerekse de 1934 sonrası Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi (RSHM)'nde yıllarca yurt dışından hiç bir suş talep edilmemiştir. Şerefeddin Mustafa, o dönem İstanbul'da çiçekten ölen

*Mik. Dr., Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi, Aşı-Serum Üretim ve Araştırma Bölümü Ankara

bir hastadan aldığı örneği merkep yavrusuna inoküle ederek insan virusu variolanın da pasajlarla hayvanda üretilebileceğini göstermiştir. Bu virus beşinci pasajdan sonra hiç aşılammış çocuklarda da aşı olarak denenmiş, tam ve mükemmel bağışıklık elde edildiği ileri sürülmüştür. Bu suş daha sonra Ankara'ya götürülmüş ve korunmuştur (Ünver, 1948).

Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü'nde üretilen çiçek aşısının potens tayin yönteminin, tavşan deri testleri yerine tavuk embriyonu korio-allantoik zarında yapılmasına geçiş için yapılan çalışmalardan olumlu sonuçlar alınmıştır (Özlüarda, 1959). Daha sonra çiçek aşısının kuru olarak üretilmesi girişimi sonunda hazırlanan iki seri kuru çiçek aşısı 1965 Aralık ayında Nevşehir'in köylerinde ilk kez uygulanmıştır. Bu uygulamada alınan sonuçlarla kuru çiçek aşısının uluslararası standartlara uygun olduğu bildirilmiştir (Özlüarda, 1965). Kuru çiçek aşılması uygulamasının devamı olarak bir yıl sonra, önceden başarılı olarak primovaksinasyon yapılmış kişilere potent bir aşı ile revaksinasyon uygulanarak aşının etkinliği değerlendirilmiştir. Saha uygulaması sonucunda, kuru aşının primo ve revaksinasyonda yaş aşı kadar bağışıklama gücüne sahip olduğu bildirilmiştir (Özlüarda, 1967).

Çiçek hastalığı ile savaşta Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 1968'de endemik bölgelerde kitlesel aşılama önermiş ve çiçek eradikasyonunun hız verilmiştir. Bununla beraber bazı ülkelerde çiçek vaksınasyonunun yasal zorunlu yöntemi 1970 sonrasında terk edilmiştir. Buna gerekçe olarak da oluşabilen postvaksinal ensefalit komplikasyonlarındaki mortalitenin %38-58 gibi yüksek bir oranda olması gösterilmiştir, ki bu oran çiçek hastalığının neden olduğu ölümlerin oranı ile kıyaslanamayacak kadar yüksektir. Oysa o dönemde ülkemizde çiçek aşısından sonra ensefalit görülmediği kesinlikle belirtilmekte ve bunun nedeni de aşının üretiminde yöntem olarak kullanılan eşek pasajlarına bağlanmaktadır. Bu durumla ilgili olarak 1973, 1974 ve 1975 yıllarında 0-6 yaş arasında 6685 çocuğa Ankara'da uygulanan çiçek aşısı sonrasında komplikasyon takibi yapılmıştır. Bu çocukların hiç birinde ensefalit ve aşı ile ilgili ölüm görülmemiş, diğer komplikasyonlar da normal dışı bulunmamıştır (Sungur, 1975).

1957 senesinden itibaren çiçek hastalığının Türkiye'de görülmemesine karşın 1970'lerde endemik bölgelere yakın olmamız nedeniyle aşı uygulamalarına devam edilmiştir. Üretim yöntemlerinin de gelişmesi ile RSHM'de üretilen aşılardan uluslararası standartlara göre en iyi örneklerden olduğu bildirilmiştir. Yeni doğanlara çiçek aşısının BCG ile aynı zamanda uygulanması konusu ile ilgili olarak 1965 yılında Nevşehir köylerinde 1095 çocuğa primovaksinasyon veya revaksinasyonu içeren araştırmada alınan iyi sonuçlardan sonra 0-6 yaş grubuna BCG ile beraber çiçek aşısı da uygulanmaya başlanmıştır (Özlüarda, 1971). Çiçek aşılması sonrası oluşan bağışıklığın serolojik olarak incelenmesi amacıyla yapılan çalışmada, Ceran ve Okuyan, 1978 aşılı kişinin

serumlarında hemagglutinasyon önlenim ve koriyoallantoik membran nötralizasyon testlerinde özgün antikörlerin belirlendiğini bildirmişlerdir. Aynı zamanda aşından sonra geçen süre ile antikor düzeyi arasında kesin bir ilişki bulunamadığı da rapor edilmiştir.

Kuduz

Osmanlı'daki diğer önemli aşı çalışmaları ise kuduz aşısı üzerine gerçekleştirilmiş olup, dünyadaki ilk örneklerden birisini oluşturmuştur. 1886'da Pasteur'ün kuduz aşısını bulmasından bir yıl sonra Dr. Zoeros Paşa ile Dr. Hüseyin Remzi ve Vet. Hüsnü Bey Paris'te bizzat Pasteur'den aşının hazırlanma yöntemlerini öğrenmiş ve yeni kurulan İstanbul Kuduz Tedavi Müessesesi'nde (1887) bu aşının üretimini gerçekleştirmişlerdir. İlk aşı, Pasteur Müessesesinden getirilen kuduz virusu enjekte edilmiş iki tavşandan başlatılan pasaj ve kurutma yöntemi ile Dr. Zoeros Paşa ve Dr. Sadi Bey tarafından üretilmiş ve tedavilere de Pasteur metodu ile devam edilmiştir. O günlerde bu metod ile bir hastanın tedavisi için ortalama 3-4 tavşan omuriliği olmak üzere günde 20-30 tavşan kullanılmaktaydı. Dr. Zoeros Paşadan sonra İstanbul Kuduz Tedavi Müessesesi Müdürlüğüne Fransa'dan getirilen Dr. Remlinger'in kuduz üzerine yapmış olduğu çalışmalar onu bu alanda önemli bir isim yapmıştır. 1902'de kuduz virusunun yapısı hakkında hiç bir şey bilinmiyor ve kuduz etkeninin ultramikroskopik bir organizma olabileceği varsayılıyordu. Remlinger sabit kuduz virusu süspansiyonunu, tavuk kolerasının çok virulan olan bir kültürü ile karıştırıp Berkefeld bujisinden geçirerek hazırladığı filtratı bir seri tavşan beynine zerk ederek hayvanların koleraya tutulmadıklarını ancak 8-10 gün sonra hepsinin felçler gösterip kuduz yakalandıklarını gözlemiş ve kuduz etkeninin bakteriden küçük bir canlı olduğu teorisini doğrularak, kuduz etkenini bakteri kontaminasyonu bulunmayan şekilde izole etmişti. Bu durumu derhal Societe de Biologie'ye bildirmiş ve elde ettiği sonuçlar kabul edilmiştir. Filtrasyon çalışmalarını aynı zamanda sokak virusu ile de yapan Remlinger, o günlerde Pasteur'ün geliştirdiği kuduz tedavisinde seyrek olarak görülen felçlerin aşıya bağlı olabileceğini literatüre ilk bildiren kişi olmuştur. Daha sonra bu konunun ilgili mekanizmaları üzerine pek çok yayınlar yapılmıştır. Remlinger kuduz aşısının hayvanlarda kullanımı üzerine de dünyadaki ilk çalışmaları yapmış ve kuduz virusunun fare ve sıçanlar yoluyla da yayılabileceğini bildirerek, kuduz virusu virulansının fare ve sıçan pasajlarıyla arttığını da göstermiştir (Tunçman, 1949 ve 1957).

Kuduz virusunun organizma dışında yetiştirilmesi çalışmaları da 1910'lu yıllarda yapılmaya başlamış ve çeşitli yöntemler denenmiştir. İlk doku kültürü denemeleri maymun beyin ve omurilik parçalarında plazma içinde yapılmıştır. Ancak tüm çabalar 1936'ya kadar sonuçsuz kalmış ve nihayet 1936'da Japon araştırmacı Kanazawa tavşan embriyo beyin emülsiyonundan oluşan vasatta kuduz virusunu üretmede başarılı olmuştur. Daha sonra değişik ülkelerde döllenmiş yumurtada kuduz virusunun üretilmesi amacıyla pek çok çalışma yapılmıştır. Pugaç E ve Nikitin S de bu yönde yaptığı deneylerle kuduz virusunu

3 ve 7 pasaja kadar (18 ve 42 gün süresince) elde etmişlerdir (Palavan , 1947).

Kuduz Tedavi Müessesesi, Remlinger'in 1914 senesinde İstanbul'dan ayrılmasından sonra 21 sene boyunca Hayum Naum tarafından idare edilmiş ve 1935'te Zekai Muammer Tunçman'ın idaresine geçmiştir. O dönem itibariyle Türkiye'de iki ayrı yöntemle üretilen kuduz aşuları ile tedaviler yapılmaktadır. İstanbul'da Pasteur aşısı yerine Högyes yöntemi modifiye aşular uygulamaya alınmıştır. Sulandırılmış canlı virus partiküllerini içeren bu aşının mutlaka özel müesseselerde hazırlanması zorunluluğu bulunmaktadır. Ankara ve diğer pek çok ilde ise Semple aşısı uygulanmaktadır (Baecher,1940). Semple aşının da uygulamaya girmesi ile aşılama "desantralizasyon" dönemi başlamış, yani ısırlan kişinin aşı üretim yerine kadar gitmesine gerek kalmadan aşı hastanın ayağına kadar götürülür olmuştur. Semple aşı fenol inaktive olup 3 ay kadar kullanım süresine sahip olması nedeniyle de stok yapılması ve başka yerlere nakli mümkündür. Bu aşı 1932'de Refik Saydam Merkez Hıfzısıhha Müessesesi'nde üretilmeye başlanmış ve ilk denemelerde 79 kişi bu aşı ile başarılı bir şekilde tedavi edilmiştir. Aynı yıl açılan 26 kuduz tedavi istasyonuna aşı sevkine başlanmıştır. Daha sonra istasyon sayısı arttırılmış ve 1935'e kadar 2989 kişinin semple usulü tedavi edildiği, sadece 10 kişide (%0.33) başarısız olduğu ve hiç "paralitik aksidana tesadüf edilmediği" bildirilmiştir. Bu dönem ve sonrası ülkemizdeki semple aşı uygulamaları diğer ülkelerdeki uygulamalar ile Çilesiz tarafından kapsamlı ve karşılaştırmalı bir biçimde araştırılmış ve bizde tedaviye gelenlerde kuduzdan ölümün %0.12, yabancı ülkeler toplamında ise %0.36 olduğu buna karşın paralitik aksidanın bizde biraz fazla olduğu ve ısırlıktan sonra ilk 4 gün içinde aşıya müracaat edenlerde ölüm oranının çok daha az olduğu ileri sürülmüştür (Çilesiz ,1949). Semple aşı uygulama istasyonlarının 1953'te 127'ye ulaşmış olmasına karşın, o dönem vahşi hayvanlar ve klinik olarak kuduz olduğu tesbit edilmiş hayvanlar tarafından baş, yüz, boyun gibi tehlikeli bölgelerden ısırlanmış olanlara Högyes-Phillips yöntemi ile hazırlanmış aşuların veya antirabik serum ile bu canlı aşuların birlikte uygulandığı bildirilmektedir (Türkay, 1954). Högyes-Phillips yöntemi ile aşı hazırlayıp uygulayan yerler ise Ankara, İstanbul ve Elazığ illerindedir. Gerekli hallerde hastalar bu illere sevk edilmekte ve geçen sürede de semple aşı uygulanmaktadır. Ankara'da Refik Saydam Hıfzısıhha Enstitüsü'nde 1953'te Högyes-Phillips aşısı uygulanan 583 kişiden sadece 3 kişinin kuduz olarak öldüğü ve ölüm oranının %0.51 olduğu bildirilmiştir (Türkay , 1954). 1956'da canlı aşı hazırlanmasının tamamen terk edildiği ve bunun yanında 1949-1959 döneminde 193 291 semple aşı uygulamasında sadece 8 paralitik aksidan (3'ü ölüm) bildirilmesinin, 1945-1947'den sonra aşı üretiminde tavşan yerine koyun beyni kullanılmasıyla ilgili olabileceği ileri sürülmüştür (Arı , 1960).

Semple aşuların ensefalitik komplikasyonları nedeniyle, ördek embriyo orjinli inaktif bir kuduz aşısı bazı ülkelerde kullanılmaya başlanmıştır (Arı ,1964). Amerika'dan

getirilen ördek embriyo aşısı ile Refik Saydam Merkez Hıfzısıhha Enstitüsü'nde üretilen semple aşının, benzer iki hasta grubuna tekrar dozu olarak uygulanmasından sonra nötralizan antikor artışının test edildiğini bildirmiştir. Ördek embriyo aşısı ile daha önce aşılansınmış kişilerde tek doz uygulamadan sonra serumda 4-8 kat antikor artışı sağlandığı ve bu aşından yararlanılabileceği ileri sürülmüştür.

Refik Saydam Merkez Hıfzısıhha Enstitüsü'nde üretilen kuduz aşısı için kullanılan koyun ve keçilerin üretim sonrasında gövdelerinden besin olarak yararlanılıp yararlanılamayacağı hakkında bir çalışma Arı tarafından yapılmış olup ilginç bir araştırma olmuştur (Arı,1966). Aşı üretimi için hayvanların beyin içine inokule edilen kuduz aşı virusunun (sabit virus) üretim inkübasyonu boyunca diğer organlara geçmediği, çeşitli organ örneklerinden farelere yapılan beyin içi enjeksiyonlarla gösterilmiş ve başka ülkelerde olduğu gibi bu hayvan etlerinin bizde de değerlendirilebileceği bildirilmiştir.

S.S.Y.Bakanlığı Kuduz Aşısı Talimatı ile 4 ml olarak uygulanan Semple aşısının günlük dozunun 2 ml olarak uygulanmasının uygun olacağı, Özlüarda ve ark.,1978 tarafından farelerde yapılan nötralizasyon deneyleri ile yeniden belirlenmiştir. İki değişik doz ile aşılansın kişilerden alınan serum örneklerinin hepsinin 50 LD₅₀ (letal doz 50: uygulanan deney hayvanların %50'sini öldüren doz) sabit virusu nötralize ettiği gösterilmiştir. Uygulanmakta olan aşuların potensinin oldukça kuvvetli olduğu da vurgulanmıştır.

Tularemî

Tularemî deneysel aşı çalışmaları 1937'de Server Kamil ve Said Bilal (Golem) tarafından Stocholm 13 suşu kullanılarak kobaylarda denenmiş, fakat bağıışıklama için suşta yeterli zayıflığın sağlanamadığı gözlenmiştir. Tularemî aşısı geliştirilmesi çalışmalarına Refik Saydam Merkez Hıfzısıhha Müessesesi'nde daha sonra da devam edilmiş ve çeşitli suşlardan hazırlanan zayıflatılmış canlı aşular kobaylarda vaksınaston için kullanılarak, virulansı çok azaltılmış Berlin 38 suşunun insanlarda kullanılabilceği önerilmiştir (Gotschlich ve Golem,1940). Araştırmacılar bu raporlarında, o zamanın dünya literatüründe ölüm oranı % 4-5 olarak bilinen ancak vahim olarak nitelenmeyen tularemî hastalığına karşı aşılama ile ilgili olarak, "...vaksınasyon mücadelesinin lüzumsuzluğundan söz edilebilirse de hastalığın klinik arazının haftalarca hatta üç ay sürdüğü ve şifadan sonra da hastanın uzun müddet çalışma kudretini zayı ettiği nazarı itibara alınırsa bu gibi bir epideminin bir endüstri merkezinde veyahut ordu da doğuracağı vahim netayici göz önünden uzak tutmamak icabeder..." diyerek güzel bir bilimsel yaklaşım örneğini vermişler ve bir epidemî halinde bu aşıya başvurulabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Tifo

Tifo aşısı ilk olarak Birinci Dünya Savaşı öncesinde ve esas olarak savaş yıllarında ordularda uygulanmaya başlanmıştır. Bununla beraber tifonun toplumlarda

giderek azalmasındaki en önemli etken, kişi ve çevre temizliği bilincinin artmasıdır. Yine de tifo aşısı pek çok aşamalardan geçmiş ve çeşitli laboratuvarlarda farklı suşlardan farklı yöntemlerle farklı aşilar hazırlanmış ve uygulanmıştır. Ülkemizde kendi izolatlarımız ile ısı-fenol inaktif aşı kullanılmakta ve bu aşilerin koruyucu değerleri, Kopenhag'dan alınan Ty2 suşundan yine aynı yöntemle hazırlanmış aşilar karşılaştırmalı olarak hayvanlarda aktif ve pasif bağışıklık deneyleri yapılmak suretiyle Gören ve Akyay tarafından araştırılmıştır (Gören ve Akyay, 1956). Fare deneylerinde iki aşinin da aynı kudrette olduğu belirtilmiş ancak, tifoda immunizasyon mekanizmasının henüz bilinmediği ve hayvan deneylerinin hastalığın insandaki seyrine uygun bulunmadığı için iyi sonuçlar vermediği bildirilmiştir. O dönemde alkol inaktif aşilar da bazı ülkelerde tavsiye edilmekteyse de Dünya Sağlık Örgütü'nün Yugoslavya'da yürüttüğü saha uygulamasında ısı-fenol aşilari üstün görülmüştür. Bununla beraber yazarlar, yöntemden ziyade Vi grup fajlari bakımından 36 tip gösteren Salmonella thyphi' den etkili bir aşı hazırlamak için mahalli faj tiplerinin olmasının gerekliliğine işaret etmişlerdir. Yine Akyay tifo aşisinin üretim ve kontrolü üzerine yapılan çalışmaları tartışmış ve tifoda bağışıklığın sadece bir antijene ve onun oluşturduğu antikora bağlı olmadığını belirtmiştir (Akyay, 1962). Özellikle o dönemlerde dünyanın değişik yörelerinde meydana gelen salgınlarda lokal suşların aşı hazırlamada kullanılmasının gerekli olabileceğini ileri sürmüştür.

Tifüs Aşısı Uygulaması

1940'lı yıllarda yurdumuzda görülen "lekeli humma" salgınlarda değişik ülkelerde hazırlanan aşilarla bağışıklanan kişilerin bu hastalığa gösterdikleri direnç ve kişilerde hastalığın seyri Payzın ve Göksel tarafından araştırılmıştır (Payzın ve Göksel, 1944). Ankara ve İstanbul cezaevlerinde çıkan lekeli humma salgınında Alman canlı tifüs aşısı 0.5, 0.5 ve 1 ml olarak beşer gün ara ile uygulanmıştır. Aynı zamanda yeni kurulan tifüs aşısı laboratuvarı çalışanlarına da Alman aşısı, ABD aşısı ve yerli aşilar tatbik edilmiş ancak laboratuvar elemanlarından bazılarının aşilanmaya rağmen tifüse yakalandıkları görülmüştür. O dönem 3 bini aşkın mahkum üzerinde denenen aşilama ve temizlik çalışmaları ile hastalık yok edilmiştir. Bununla beraber bazı mahkumlarda aşilamadan 15 gün sonra %7 oranında vaksinal müren tifusu vakaları görüldüğü ancak bunların hastalığı genel olarak hafif geçirdiği ve hiçbir ölüm görülmeyişi bildirilmiştir. Burada kullanılan aşı G. Blanc'ın 1 numaralı aşisidir. Blanc 1 aşisi; Rickettsia rickettsii ile enfekte kobayların böbreküstü bezi, karaciğer ve testislerinin tuzlu su süspansiyonunun %20 safra tuzu ile 15 dakika karıştırılarak mikroorganizmanın zayıflatılması ile elde edilmiştir. Uygulama dozu 1ml'dir. Yeni kurulan tifüs aşısı laboratuvarında laboratuvar kaynaklı 11 tifüs vakası olmuştur. Araştırma sonucunda aşinin küçük dozlardaki intana karşı kişiyi koruyabildiği, koruyamadıklarında da hastalığın hafif seyrettiği bildirilmiştir. Daha sonraları Refik Saydam Merkez Hifzissihha Müessesesi'nde üretilen tifüs aşisinin potens test yöntemlerinin yerleştirilmesi yönünde kobay ve

tavşanlarda geniş çaplı in vivo deneyler yanında in vitro deneylerin de yapıldığı görülmektedir (Baecher, 1944).

Bir Kızıl Aşısı Uygulaması

1941'lerde Ankara'da okulların açılma tarihlerinde 1-12 yaş arası çocuklara Menteşoğlu tarafından kızıl aşısı uygulaması yapılmıştır (Menteşoğlu, 1944). Uygulanan aşinin Refik Saydam Merkez Hifzissihha Müessesesi aşı üretim laboratuvarlarında yerli bir izolattan hazırlanmış olduğu belirtilmekle beraber, aşinin niteliği hakkında herhangi bir bilgi verilmemektedir. Bu uygulamada aşinin yapılabilmesi için önce kontrollü bir Dick testinin yapılmasının gerekli olduğu ve Dick pozitif durumdaki çocukların aşilanmasının uygun olacağı, aşidan bir süre sonra Dick testi ile negatif duruma gelinip gelinmediğinin kontrol edilmesinin gerektiği ileri sürülmüştür. Bu yöntemle göre Ankara'da Dick pozitif 933 çocuğa bir hafta arayla iki doz kızıl aşısı uygulanmış ve % 79.5 oranında Dick negatifleşme görüldüğü bildirilmiştir

Kolera

1947 yılında Mısır'da ortaya çıkan kolera salgınından sonra kolera tehlikesinin ülkemizi ilk tehdidi, 1965 yazında İran'da ortaya çıkan kolera salgını olmuştur. 1963-1965 yıllarında dünyada kolera salgını endemik olarak bulunduğu Calkuta, Dacca ve Filipinler'de Dünya Sağlık Örgütü önderliğinde farklı laboratuvarlarda farklı yöntemlerle hazırlanmış aşilarla üç büyük saha uygulaması yapılmış ve aşilerin koruyucu değerleri üzerinde karşılaştırma ve değerlendirme yapmak mümkün olmuştur. Bu bilgiler ışığında ABD Milli Sağlık Enstitüsü ile yapılan yazışmalar ve mevcut bilgilerle RSHM'de büyük ölçekte kolera aşısı üretimi 1966'da gerçekleştirilmiştir. 1966 senesinde 20 milyon, 1967'de 10 milyon doz kolera aşısı üretilerek Sağlık Bakanlığı'na verilmiştir. Bu acil üretim çalışmalarında, İran'daki salgın izolatu El-tor suşlari yerine, ABD'den getirilen Klasik 41 Ogava ve 35 A3 Inaba suşlari kullanılmıştır. Tercih edilen standart suşlar ile hazırlanan kültürlerde fenol inaktivasyon yönteminin kullanıldığı ve kolera aşisinin bir dozunda 8(4+4) milyar jerm bulunduğu görülmektedir. Söz konusu aşinin, Pittman ve Feeley'in fare koruma yöntemi ile ABD'de Feeley tarafından yapılan potens test sonuçlarının da son derece iyi olduğu bildirilmiştir (Tulga, 1969).

BCG

Calmette ve Guerin tarafından geliştirilen ve BCG adı verilen hastalık oluşturmeyen bir tüberküloz basili suşu yeni doğan çocuklara aşı olarak vermeye başlanmış ve tüberküloz basili ile henüz temas etmeyen çocukların aşilanmasında kullanılmıştır. Doğumun ilk haftasında ağız yolu ile verilen bu aşinin zararsızlığından hiçbir şüphe olmamakla beraber, spesifik allerji yanıtını bir çok defa vermemesi nedeniyle, yarı şüphe ile karşılanmaktaydı. 1925 yılına kadar tüberküloz hakkındaki genel bilgi ve kanı ise, genellikle çocukluk çağında bu basil ile karşılaşılması ve bunun ileri yaşlarda görülen enfeksiyonun nedeni olarak değerlendirilmesi şeklindedir. Bununla beraber 1925'lerde yapılan Pirquet kontrolleri ile pozitif

ve negatif kişilerin izlenmesi ve hastalanma durumlarının belirlenmesi çalışmaları tüberküloz hakkında bilinen pek çok şeyi değiştirmiştir. Pirquet pozitif kişilerin tüberküloza yakalanma olasılıklarının negatiflere göre çok düşük olduğunun gözlenmesi ve negatiflere uygulanan BCG ile pozitifliğe dönmeyi takiben tüberküloza yakalanmanın azaldığının belirlenmesi gibi bulgular BCG'yi tüberküloz aşısı olarak onaylamıştır. Özellikle ağır tüberküloz enfeksiyonunun BCG'den sonra önemli derecede azaldığının ve mortalitenin morbiditeye oranla daha çok düştüğünün, BCG'den sonra tüberküloz menenjitin ortadan kalktığına gözlenmesi BCG uygulamalarının önemini arttırmıştır (Heimbeck, 1949). Türkiye'de de ağız yolu ile ilk BCG aşısı 1927'de İstanbul Bakteriyolojihanesinde Refik Güran tarafından hazırlanmış ve uygulanmıştır. Daha sonra BCG aşısı 1931'de Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Müessesesi'nde üretilmeye başlanmış ve 1948'e kadar sınırlı miktarda üretilen bu aşı isteyenlere uygulanmıştır. 1948'den itibaren deri içi aşısına geçilmiş ve bu aşı pirquet testi yapıldıktan sonra negatif olanlara tatbik edilmiştir. İlk deri içi uygulamalar, özellikle İzmir ve Ankara'da, takip edilerek sonuçları değerlendirilmiştir. Bu uygulamalarda aşılama sonrası %86.6 oranında allerji pozitifliğinin oluştuğu, yan etkinin de çok düşük olduğu bildirilmiştir (Berkin, 1949). 1953 senesinde uluslararası BCG kampanyası başlatılmış ve Türkiye'de de tüberkülin test kontrolleri yüksek düzeye ulaşmıştır. Bu dönemde (1948-1955) yapılan yaklaşık 9 milyon tüberkülin uygulamaları sonucunda toplumun %56 pozitif, %44 negatif durumda bulunduğu belirtilmiş ve negatif olanların ise %97.5'inin aşılandığı ileri sürülmüştür. Bu çalışmalar sonucunda ülkemizde BCG aşısına mümkün olduğu kadar erken yaşlarda başlanması gerektiği bildirilmiştir (Erzin, 1956), (Erzin, 1957). Prevakinsasyon allerjiyi belirlemek için Türkiye BCG kampanyasında SSS-Danimarka PPD kullanılmış ve tüberkülin testinde Mantoux yöntemi uygulanmıştır. Kampanyada oluşturulan re-test ekipleri de aşılanan kişilerin bir kısmına iki ay sonra 5 TU-PPD testi yapmışlardır. Bu kampanya boyunca yaklaşık 35 048 kişide yapılan re-testlerde, aşılamadan 2-6 ay sonra >%93.4 ve 6-10 ay sonra da %82.06 oranında pozitiflik belirlendiği bildirilmiştir. 30 ilde toplam 36 925 kişinin aşı yerinde yapılan incelemelerde de dünyadaki kampanyalara göre iyi sonuç alındığı ileri sürülmüştür (Açan ve Özlüarda, 1959).

Kızamık

Kızamık hastalığına karşı aşı geliştirme çalışmaları 1940'larda tavuk embriyonuna kızamık virusunun adapte edilmesi çalışmaları ile başlamış ve 1954'de Enders ve Peebles virusu insan ve maymun böbrek hücre kültürlerinde üreterek izole etmeyi başarmışlardır. "Edmonston suşu" olarak adlandırılan bu virus daha sonra tavuk embriyo hücre kültürüne adapte edilmiş ve antijenik yapısını koruyarak değişime uğraması sağlanmıştır. Edmonston suşunun atenué aşı olarak uygulamalarından başarılı sonuçlar alınması ile kızamık aşısı kullanıma girmiştir. Dünyada o zaman yeni uygulanmaya başlanan

kızamık aşısı ile ülkemizde 1965'te Amerikan atenué kızamık aşısı ile 9 ay ile 5 yaş arasındaki çocuklar aşılanarak daha sonra 6. ve 15. günlerde kontrolleri yapılmıştır (Arı A., 1966). Benzer bir başka çalışmada da Zagreb aşısı ile kızamık geçirmemiş 6 ay ve 7 yaş arası 108 çocukta bağışıklama yapılmıştır. Bu çalışmada da 20 gün süreyle çocuklar izlenmiş ve genel olarak önemli reaksiyon görülmediği, sadece ikisinde kızamık döküntüsü gözlemlendiği bildirilmiştir (Baykan N. ve Öner G., 1970). Genişletilmiş Bağışıklama Programı (EPI) döneminde yeni doğanlarda maternal antikor düzeyinin belirlenmesi amacıyla yapılan bir çalışmada, aşılanmamış 3-9 aylık 37 bebeğin %27'sinde kızamık IgG antikor pozitif olarak belirlenirken, 10-12 aylık 21 çocuğun %19'unda kızamık IgG pozitif bulunmuştur. Bu durum, çalışma dar bir grupta yürütülmüş olsa da yeni doğan sınıfında önemli bir seronegativiteye işaret etmiştir (Yılmaz N ve Artuk Ç., 1994). Çok sınırlı bu aşı uygulama çalışmalarına karşın kızamık aşısı ve üretimi üzerine ülkemizde yapılmış herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Polio

Polio hastalığına karşı bulunan ilk aşı olan inaktif Salk aşısının batı ülkelerinde geniş olarak uygulamaya girmesi ve iyi bir koruma sağlamasına karşın, bu aşı ile bağışıklığın geç oluşması ve aşı üretiminin pahalı olması gibi dezavantajları da bulunmaktaydı. Kısa süre sonra Albert B. Sabin'in geliştirdiği ve ağızdan verilebilen atenué aşılardan bir çok ülke tarafından tercih edilmeye başlanmıştır. Türkiye'de 1963 yılında ilk olarak pilot bir kaç ilde, yurt dışından getirilen trivalen Sabin aşısı 4 ay ve 7 yaş arasındaki çocuklara uygulanmıştır (Arı A., 1963). Daha önce Berke ve Arı ülkemizde ilk polio antikor düzeyinin belirlenmesi ile ilgili araştırmayı Akdeniz ve Doğu Karadeniz bölgelerinde yapmışlardır (Berke Z ve Arı A., 1960). 0-9 yaş arasında çocuklara ait serum örnekleri, ABD' de "Walter Army Institute of Research"e gönderilerek tip I, II ve III nötralizan antikorları yönünden test edilmiştir. Bu çalışmada bir yaşından itibaren yaş ilerledikçe kanda bulunan polio antikor düzeyinin yükseldiği belirlenmiştir. Yazarlar, 1959'da poliyomyelitis virusu enfeksiyonunun oluşturduğu felçli vaka sayısının 330 ve ölüm sayısının 12 olarak bildirildiği ülkemizde, virusun yaygın olduğuna işaret etmişlerdir. Kızamık aşısı gibi ülkemizde polio aşısı üretimi üzerine de bir çalışma veya polio aşısı ile ilgili herhangi bir araştırma bulunmamaktadır.

Hepatit B

Adsorbe aşılardan önemli komponentlerinden birisi de kullanılan adjuvant maddelerdir. Adjuvantlar, organizmada antijenlere karşı bağışık yanıtı artırılmasını sağlayan, moleküler düzeyde farklı etki mekanizmaları olan maddelerdir. İnsan aşılarda kullanılan adjuvantlar daha çok alüminyum jelleri olup, bu alanda alternatif adjuvant geliştirme araştırmaları dünya literatüründe deneysel aşılarda yapılan çalışmalar olarak yer almaktadır. Ülkemizde Eratalay ve arkadaşları hazırladıkları değişik formülasyonlarda hepatit B yüzey antijeninin deney

hayvanlarında oluşturduğu humoral antikor yanıtı değerlendirmişlerdir (Eratalay ve ark., 1998). Bu çalışmada çoklu emülsiyon, niozom, alüminyum fosfat jeli gibi taşıyıcı sistemlerle adsorbe edilen rekombinant HBs antijeni ve ticari bir aşı farelerin bağışıklanmasında kullanılmış, en iyi bağışık yanıtın niozom vezikülleri ile sağlandığı bildirilmiştir. Gürsel ve arkadaşları lipozomlarda plazmid DNA'nın immünoadjuvant etkisini hepatit B yüzey antijenini (HbsAg) kodlayan pRc/CMVHBS vektörü ile yaptıkları çalışmada değerlendirmişlerdir (Gürsel M. ve ark., 1999). Bu çalışmada, plazmid DNA'nın çok az miktarda antijen ile lipozom içinde verilmesi durumunda Th1 yanıtını arttırıcı etki oluşturduğu ve bu etkinin metilasyon ile azaldığı bildirilmiştir.

Difteri

Difteri bağışıklaması Ramon'un 1913'te difteri toksinini formalin muamelesi ile antijenik yapısını bozmadan toksoid (anatoksin) hale getirerek aşı olarak kullanmasıyla başlar. Bundan önce immünizasyon için difteri toksini ile beygirlerden elde edilmiş antitoksin karışımı önce hayvanlarda ve sonra çocuklarda kullanılmış ve çok sakıncalı olan bu yöntem pek çok çocuğun ölmesine neden olmuştur. Oysa Ramon aşısı ile bu sorun çözülmüş ve difteri bütün dünyada giderek azalmıştır. Bununla beraber hazırlanan anatoksinlerin değişkenlik göstermeleri nedeniyle bağışıklığı arttırıcı değişik denemeler yapılmış ve 1926'da Glenni anatoksine potasyum şapı ilavesiyle çöktürme yoluyla hazırladığı aşının daha üstün olduğunu bildirmiş ve böylece şaplı aşılar ortaya çıkmıştır. Aşı üretiminde gerekli difteri toksininin eldesi için 1898'den sonra uzun yıllar kullanılan Louis Martin yöntemi ülkemizde de kullanılmıştır. Cansun ve Payzın Corynebacterium diphtheriae Park-Williams No 8 Toronto suşu ile Müller ve Wadsworth besiyerlerinin bir modifikasyonu olan özel bir sentetik besiyerinde toksin üretimine geçmişlerdir (Cansun ve Payzın, 1949). Bu yöntem 1949-1967 yılları arasında aşı üretiminde kullanılmıştır. Daha sonra Şentürk casamino asitleri ve bazı ilave amino asitleri içeren bir besiyeri ile statik kültürde daha fazla toksin üretimi elde ettiklerini ve bu yöntem ile elde edilen toksinin aşı üretimi için de uygun olduğunu bildirmiştir (Şentürk).

Difteri aşısının geliştirilmesi ve üretimin arttırılması yönündeki çalışmaların yanısıra, o yıllarda bazı saha çalışmalarının da yapılmakta olduğu görülmektedir. Difteri aşısı uygulamalarının yaygınlaşmasıyla toplum bağışıklığı bazen Schick testi ile değerlendirilmiştir. 1950'lerde Ankara civarında bazı köylerde yapılan Schick testi taramalarında 1-5 yaş grubunda %60'dan fazlası duyarlı bulunmuş, 6-12 yaşlar arasında ise bu hassasiyetin %30'a düştüğü bildirilmiştir. 1950'li yıllarda dünyada difteri azalırken Türkiye'de oldukça yüksek oranda görüldüğü; her yıl 2000 çocuktan birinin difteriye mutlaka yakalandığı ve yakalanan 100 çocuktan da 13-14'ünün bu hastalıktan öldüğü bildirilmiştir. Bununla beraber, bu rakamların resmi ihbarlar dikkate alınarak belirlendiği, oysa gerçek rakamların 3-5 katı fazla olabileceği ileri sürülmüştür (Akyay N. 1958).

1943-1952 yılları arasında kayıtlara göre 10 585 olan difteri vakalarında portörlüğün önemine de dikkat çekmek için yapılan bir ilkokul portör araştırmasında ise, 489 ilkokul öğrencisinde 27 portör ve 4 hasta tesbit edilerek portör oranı %6.22 olarak bildirilmiş ve bunların sağaltılmaları yoluna gidilmiştir (Akyay N. 1953). Özellikle 1957'de difteri vakalarının boğmaca ve tifo ile aynı oranlara ulaşmış olması dikkat çekici olmuştur. Adsorbe aşılardan daha az reaksiyona neden olduğu ve iki enjeksiyonla bağışıklık verme durumu olmasına karşın, 1950'lerde bazı ülkelerde görülen polio vakalarının adsorbe aşılardan sonra sıklaştığı şeklindeki gözlemlerin adsorbe aşılardan ikinci plana düşürdüğü bildirilmiştir. Ülkemizde de o yıllarda adsorbe aşının adele içine zerk edilmesi nedeni ile çekinceler gösterilmiştir. O dönemde ülkemizde kullanılan difteri aşısı 50-70 Lf anatoksin olarak hazırlanmakta ve ciddi reaksiyon oranının %0.3-0.4 olduğu ileri sürülmektedir. Bununla beraber ülkemizde 1950'li yıllarda koruyucu sağlık hizmetlerine yeterince önem verilmediği, yaklaşık 8 milyon duyarlı çocuk kitlesinden 400 bin çocuğun (%5) aşılantılabildiği, oysa bu rakamın %70'lere çıkması gerektiği vurgulanmaktadır. Yine o yıllardaki Umumi Hıfzıssıhha Kanunu'nun sadece çiçek aşısını zorunlu tuttuğu, bunun yanında BCG aşısının da çok iyi uygulanmakta olduğu, bunların dışında hiçbir bağışıklamanın planlı programlı yürütülmediği bildirilmiştir (Akyay N, 1958).

Difteri aşı uygulaması ile hastalık ve ölüm istatistiklerinin 1957 yılından önce sağlıklı olarak bulunmaması nedeniyle güvenilir veriler bu yıldan sonra incelenmiş ve özellikle 1964 yılından itibaren başlanan sistematik aşı uygulamalarıyla morbidite ve mortalite oranlarının süratle düşmeye başladığı bildirilmiştir. 1950-1965 yıllarında epidemik şekilde görülen difteri 1970'lerde sporadik seyirli vakalar halini almıştır (Batum K. 1977, Dündar T. 1977).

Difteri toksoidinin farelerdeki bağışıklık tepkimelerinin incelenmesi amacıyla yapılan çalışmada Hakgüdenner primer bağışıklamada 1.5 Lf toksoidin enjeksiyonundan sonra timus, dalak ve akciğerde mast hücre cevabı artışını önemsiz, lenf düğümünde ise önemli bulduklarını bildirmiştir (Hakgüdenner Y., 1976). Bununla beraber immüno-difüzyon ve deri nötralizasyon testlerinde antikor cevabının 15. günde belirlendiği ileri sürülmüştür.

Difteri aşısı kontrol çalışmalarında aşılardan koruyucu gücünün test edilmesinde mevcut in vivo referans testlerde fazla deney hayvanı kullanılmakta, deneyler uzun sürmekte ve testin tekrarı durumlarında ise çok daha uzun bir zaman kaybı olmaktadır. Ünver ve Özcengiz, kombine aşılarda difteri komponentinin koruyucu gücünün indirekt hemaglutinasyon (IHA) yöntemiyle belirlenebilmesi için koyun eritrositlerinin difteri toksoidi ile kaplanması için kullanılan yöntemi modifiye etmişler ve bu şekilde kapladıkları eritrositlerle yaptıkları mikrohemaglutinasyon deneylerinde, kombine aşılarda bağışıklanan az sayıda kobayda oluşan difteri antikor yanıtının hassas olarak saptanabildiğini bildirmişlerdir (Ünver ve Özcengiz,

1990). IHA yönteminin toksin koruma testi ile uyumlu olduğu da gösterilmiştir.

Difteri toksininin saflaştırılması çalışmasında Özcengiz tam molekül difteri toksininin, A ve B fragmanlarına ayrılmadan, yüksek basınç altında Süperdex 75 jel filtrasyon kolonundan hızlı ve yüksek verimlilikle saflaştırıldığını bildirmiştir (Özcengiz, 1998). Aynı zamanda difteri toksoidinin de aynı yöntemle tek bir protein olarak elde edildiği belirtilmiştir.

Tetanoz

Tetanoz toksoidi ilk olarak Ramon ve Descemoy tarafından hazırlanmış ve 1926'dan itibaren Ramon ve arkadaşları özellikle orduların tifo-paratifo ve tetanoza karşı aşılınmalarını ısrarla önermişlerdir. Savaş yıllarında pek çok ordunun tetanoz aşısını uyguladığı ve aşının etkinliğinin bu dönemde net olarak belirlendiği görülmektedir. 1940'larda, özellikle Harvard Üniversitesi'nde Mueller ve Miller tarafından, tetanoz aşısının üretiminin geliştirilmesi için yüksek seviyede toksin elde etme çalışmaları yapılmış ve besiyerine adapte mutant Harvard suşu meydana gelmiştir. Bu çalışmalara Fişek NH'de katılmış ve Clostridium tetani'nin üreme ortamına öküz kalbi adelesi enfüzyonunun ilavesi yapılarak besiyeri geliştirilmiştir (Fişek NH, Mueller JH, Miller PA. 1954). Bu yöntem 1956'dan sonra Refik Saydam Merkez Hıfzıssıha Enstitüsü'nde de uygulanmış ve zaman zaman toksin üretim kapasitesine göre optimizasyon çalışmaları yapılmıştır (Tulga, 1960). Daha sonra, Fişek-Mueller-Miller besiyerinin değişik ısı sterilizasyonları ile elde edilen toksin miktarı arasındaki ilişkiyi Erbaşoğlu kendi üretim hacimleri ve koşullarında incelemiştir (Erbaşoğlu, 1976). Gören tarafından tetanoz toksoidinin, Danimarka SSS'den temin edilen alüminyum hidroksit ile karıştırılarak kobaylara yapılan enjeksiyonda daha iyi bağışık yanıt oluşumuna yol açtığı gösterilmiştir (Gören S., 1951). Ankara Askeri Biyoloji Enstitüsünde üretilen tetanoz toksoidlerinin potensinin değerlendirilmesi amacıyla yapılan çalışmada ise yüksek dozda periton içi bağışıklanan kobaylarda serum gamma globulin düzeyi artışının önemi belirtilmiştir (Toppare S ve Erbaşoğlu O., 1976).

Tetanoz bağışıklamasının toplumumuzda yaygınlaştırılması çalışılmasına karşın Türkiye'de 1957-1972 arasındaki yıllarda resmi istatistiklere göre tetanozdan senede 312-439 ölüm olduğu bildirilmiştir (Karagöl Z., 1977). Tetanoz aşısı toplumlarda en fazla uygulanan aşı olmasına karşın erişkin dönemde tekrar aşılmanın genel olarak uygulanmaması nedeniyle ileri yaşlarda yeterli antikor düzeyine sahip kişi sayısında azalmalar görülmektedir. Bu yönde toplum antikor düzeyini araştırmak için dünyada pek çok çalışma yapılmıştır. Türkiye'de de az sayıda insanda bazı antikor düzeyi araştırmaları gerçekleştirilmiştir. Çetin ve arkadaşları Malatya yöresinde 0-79 yaş arası 175 kişide yaptıkları tetanoz antitoksin düzeyi belirleme çalışmasında; 0-12 yaş grubunda %14.3, 13-20 yaş grubunda %5.9, 21-30 yaş grubunda %25, 31-50 yaş grubunda %74.3, 51 ve

üzeri yaş grubunda %85.7 oranında antitoksin düzeyini kesin koruyucu değerin altında belirlediklerini, genel olarak bireylerin %41.1'inde minimal koruyucu antitoksin düzeyinin altında değerler saptadıklarını bildirmişlerdir (Çetin C ve ark., 2000). Ülkemizde bu amaca yönelik olarak yapılan diğer çalışmalarda; Atabey ve arkadaşları Sivas'ta %49.3 oranında, Gedikoğlu ve arkadaşları Bursa'da %81 oranında, Aksu ve arkadaşları Adana'da annelerde %50, çocuklarda %57 oranında kesin korucu değerin altında antitoksin düzeyi belirlediklerini bildirmişlerdir (Atabey ve ark., 1990; Gedikoğlu ve ark., 1990; Aksu ve ark., 1987). Akyol ve Baysal benzer bir çalışmada tarım kesiminde çalışanlarda %8.3, askerlerde %68, doğum yapan anne ve bebeklerinde %35, tıp öğrencilerinde %53.3 oranlarında koruyucu tetanoz antitoksin düzeyleri saptamışlardır (Akyol G ve Baysal B., 1994). Bu çalışmalar oldukça dar topluluklarda yapılmış olsa da tetanoz bağışıklık düzeyinde özellikle ileri yaşlarda ve kırsal kesimde önemli eksiklikler olduğuna işaret etmiştir.

Tetanoz aşısı üretiminde önemli kontrollerden biri de aşının etkinliğinin belirlenmesidir. Bu amaçla kullanılan referans testler olan in vivo toksin nötralizasyon veya toksin koruma deneyleri uzun zaman almakta ve bu testlerde pek çok deney hayvanı kullanılmaktadır. Bu nedenle Özcengiz ve arkadaşları, aşılardan özgül antikor yanıtını daha az hayvan kullanarak daha kısa sürede belirlemek amacıyla horoz eritrositlerini, ileri derecede saflaştırdıkları tetanoz toksoidi ile, modifiye ettikleri yöntemi kullanarak kaplayıp, bağışık kobay serumlarında özgül antikor cevabını belirlemek için in vitro indirekt hemaglutinasyon çalışmasında kullanmışlardır (Özcengiz ve ark. 1993). Bu yöntemle, Refik Saydam Hıfzıssıha Merkezinde hazırladıkları adsorbe deneysel tetanoz toksoid (TT) aşısının kobaylara uygulanmasından sonra 192 IU/ml gibi yüksek bir antikor titresi elde edildiğini bildirmişlerdir.

Ülkemizde plain aşı (saflaştırılmamış ve adsorbe olmayan) olarak üretilen ve uygulanan tetanoz aşısının geliştirilmesi amacıyla modernize edilen üretim yerinde, ilk kez fermentör teknolojisi ile 300 litre kültürde yüksek verimde tetanoz toksini üretimi 1999'da gerçekleştirilmiştir (Özcengiz ve ark., yayımlanmak üzere sunuldu). Araştırmacılar tarafından geliştirilen proses ile elde edilen saflaştırılmış toksoid, kendilerinin hazırladığı alhidrojelle adsorbe edilerek, ilk adsorbe tetanoz aşısı pilot düzeyde 2000'de üretilmiş ve iki yıl boyunca seri pilot üretimler ve stabilite kontrolleri yapılmıştır. Aşılardan potensiyonünden de periyodik testlerde (farelerde toksin koruma referans test) başarılı olduğu ve ABD FDA Kontrol Laboratuvarlarına gönderilen bir seri aşının da en yüksek koruyucu değere sahip bulunduğu bildirilmiştir.

Boğmaca

Günümüzde dahi bebek ölümlerinde en büyük nedenlerden biri olan boğmaca hastalığının etkeni Bordetella pertussis, 1906'da Bordet ve Gengou tarafından bulunmuştur. İlk boğmaca aşısı ise 1912'de Tunus'ta bir

salgın sırasında kullanılmış ve aşının tedavi amacıyla kullanılması yanında esas koruyucu değerinin açık olarak gösterilmesi 1923 yılında Feroe adalarına yapılan uygulamalarla gerçekleşmiştir. Türkiye'de ilk boğmaca aşısı üretimi ve uygulaması ise Payzın ve Akyay tarafından bildirilmiştir (Payzın S ve Akyay N., 1948). Araştırmacılar Türkiye'de bir yaşından küçük çocuklarda görülen ölümlerin üçte birinin boğmacadan ileri geldiğini belirtmiş ve ilk boğmaca aşılarını Refik Saydam Hıfzıssıhha Müessesesi'nde Kendrick ve Eldering yöntemine göre hazırlamışlardır. Bu aşılardan üretilen Bordetella pertussis Nursel, Gün ve Saadet gibi yerli suşlar yanında ABD'den getirilen suşlar kullanılmıştır. Bu ilk boğmaca aşıları Ankara'da Mayıs ayında görülen boğmaca epidemisinde tedavi edici ve koruyucu olarak kullanılmış ve çok başarılı bulunmuştur. Özellikle 290 hasta çocukta dörder gün arayla 0.5/0.75/1.0 ve 1.5 ml olarak uygulanan aşıyla, hastalığın erken döneminde başvuranların %80'inde hastalığın hafif geçirildiği gözlenmiştir. Boğmaca aşısının koruyucu olarak da salgın hallerinde birer hafta arayla 1.0/1.5/1.5 ve 1.5 ml olarak uygulandığı ve aşı olanlarda hastalık görülmediği ileri sürülmüştür. Uygulamalarda hafif ateş ve hafif lokal reaksiyonlar dışında ciddi komplikasyonlar gözlenmemiştir. O dönemde özellikle halkın aşılama alıştırılması gibi çabalar gösterildiği de görülmektedir. Yine o dönemde yaz aylarında İzmir ilinin Bayındır ilçesinde çıkan epidemide 904 boğmacalı çocuğa tedavi amacıyla boğmaca aşısı uygulanmış ve %75 gibi hızlı iyileşme kaydedilmiştir. Türkiye'de ilk kez uygulanan aşının yerli izolatlardan yapılmasının etkinliğinde önemli rol oynadığı ve aşıda jerm sayısının da düşük tutularak ciddi yan etkilerin hiçbir şekilde görülmediği ileri sürülmüştür. Oysa başka ülkelerde boğmaca aşısına atfedilen beyin kanamaları, konvülsiyon gibi komplikasyonların bildirildiğinden söz edilmekte ve özellikle jerm yoğun veya pertussis toksoit aşılardan uygulandığı ve daha çok allerjik ve merkezi sinir sistemi hastalığı olan çocuklarda bu komplikasyonların oluştuğuna dikkat çekilmektedir (Payzın S ve Akyay N., 1949).

Daha sonraları Refik Saydam Hıfzıssıhha Enstitüsü'nde boğmaca aşısı üretiminin sıvı besiyerinde bakterinin faz I karakterini koruyarak üretilmesi çalışmaları deneysel olarak gerçekleştirilmiş ve aşının Kendrick yöntemiyle hazırlanan aşısı kadar immünojenik olduğu bildirilmiştir (Gülmezoğlu E., 1956). Powell ve ark. tarafından aktif kömür ilavesi ile modifiye edilen Cohen-Wheeler katı besiyeri ülkemizde 1965'ten sonra boğmaca aşısı üretimi için kullanılmaya başlanmış ve bu aşılardan potensinin Dünya Sağlık Örgütü kriterlerinin üzerinde olduğu bildirilmiştir (Karagöl Z ve Sesveren A., 1969).

Sağlık hizmetlerinin sosyalleştirilmeye başlandığı 1963 ve sonraki dönemlerde boğmaca aşısının üretim miktarları ve sahada uygulanma oranları ile hastalığın durumunu inceleyen Dündar bu dönemde sahaya 0-5 yaş grubunun %56'sını boğmacaya karşı bağışıklayacak miktarda aşı gönderildiği halde çocukların ancak %17'sinin bağışıklandığını bildirmiştir (Dündar T., 1976).

Boğmaca aşısı uygulamalarının 1957'den itibaren giderek arttığı ve ülke genelinde 1965'te duyarlı yaş gruplarında sistematik uygulamaya başlanmasının ardından, esas olarak 1967'den sonra, morbidite ve mortalite oranlarının düşmeye başladığı görülmüştür. 1962 öncesine göre bu dönemde boğmaca aşısı uygulaması altı kat artmıştır.

Boğmaca hastalığına karşı korunmada ve hastalığın uzun zamandan bu yana kontrol altında tutulmasında büyük güven veren klasik boğmaca aşısı, bazı gelişmiş ülkeler hariç, dünyadaki ülkelerin büyük çoğunluğunda hücresel bir aşı olarak uygulanmaktadır. Hücresel aşılar bazı toksik yapılar inaktivasyon ve hücrelerin yıkanması veya minimumda tutulması gibi yöntemlerle etkisiz kılınmaya çalışılsa da, çok az miktarda da olsa bu yapıların aşılar da buldukları bir gerçektir. Bu nedenle hücresel boğmaca aşısı gerekli toksite testlerinden geçmesine rağmen bazı çocuklarda istenmeyen reaksiyonlara neden olabilmektedir. Özellikle nörolojik risk altındaki çocuklara, yani ailesinde bu tür rahatsızlıkları bulunanlara klasik hücresel aşının uygulanması kontrendikedir. Boğmaca etkeni Bordetella pertussis'in patogenezi ve immünojenitesi konularında sağlanan ilerlemeler sonucu 1980'li yıllarda bakterinin bazı komponentlerinden oluşan ve yan etki bakımından daha güvenilir olduğu belirlenen yeni hücresiz bir aşı uygulamaya girmiştir. Yeni aşı stratejisi, ters reaksiyonlardan sorumlu faktörlerin belirlenip aşından uzaklaştırılması yerine, kesin olarak saptanan virulans faktörlerine karşı bağışıklama çalışmaları yapılması yönünde değişmiştir (Özcengiz E., 1990). Son derece nazlı bir bakteri olan Bordetella pertussis'in başlıca patogenezi ve immünojeniteden sorumlu sekonder metabolitleri olan pertussis toksin (lymphocytosis promoting factor, LPF) ve filamentöz hemaglutinin (FHA) molekülleri, yeni aşının esas komponentleri olmuştur. Özcengiz ve Günalp LPF ve FHA moleküllerini iyon değiştirici kromatografi yöntemi ile tek kolondan saflaştırmışlar ve deneysel hücresiz aşı çalışmalarında kullanmışlardır (Özcengiz E ve Günalp A., 1990 (1)). Özcengiz ve Günalp LPF ve FHA ile farelerde yaptıkları aktif bağışıklama çalışmalarında, intranasal koruma yönteminin hücresiz boğmaca aşısının koruyucu gücünün belirlenmesinde kolaylıkla kullanılabileceğini bildirmişlerdir (Özcengiz E ve Günalp A., 1991).

Yeni hücresiz boğmaca aşısının yapımında gerekli olan pertussis toksin (lymphocytosis promoting factor, LPF) ve filamentöz hemaglutinin (FHA) gibi moleküllerin elde edilebilmesi için uygun sıvı besiyerleri ve toksin sentezleme yeteneği yüksek B. pertussis suşlarına gereksinim vardır. Özcengiz ve Günalp modifiye ettikleri Morse-Bray sıvı besiyerinde toksin sentezinin daha erken başladığını ve yüksek seviyede gerçekleştiğini belirlemişler ve glutatyonun organik sülfür kaynağı olarak toksin sentezinde en önemli madde olduğunu ileri sürmüşlerdir (Özcengiz E ve Günalp A., 1990 (2)). Yazarlar bu çalışmada ülkemizde boğmaca aşısı üretiminde 1948'den bu yana kullanılan yerli izolat Saadet suşunun da yüksek düzeyde pertussis toksin sentezleme özelliğinde olduğunu bildirmişlerdir.

Boğmaca etkeni *B. pertussis* suşlarının yapısal ve bağışıklık oluşturma düzeyleri birbirinden farklı özellikler gösterir. **Tarhan ve Özcengiz** değişik suşlarla hazırladıkları tam hücre boğmaca aşılarıyla yaptıkları çalışmada, önemli komponentlerin aşı suşunda bulunmasının yanı sıra bunların organizmada yeterli bağışık yanıt oluşturarak kendisini immünolojik olarak iyi ifade edebilmesinin de önemli olduğunu bildirmişlerdir (**Tarhan G ve Özcengiz E., 1995**). Deney hayvanlarında farklı suşlardan hazırlanan tam hücre aşılarının farklı agglutinin ve anti-FHA yanıtı oluşturduğunu ve Saadet suşunun tüm bu özellikler bakımından diğer suşlardan üstün olduğunu ileri sürmüşlerdir. Yazarlar Saadet suşunun, *B. pertussis*'e özgü bir determinantı serolojik olarak ortaya çıkarabilecek kararlılıkta ve yapıda olduğunu da belirtmişlerdir.

Dünyada ilk olarak Japonya'da 1981 yılında LPF(PT) ve FHA komponentlerinden oluşan bir aşı olarak uygulamaya giren yeni hücre-siz boğmaca aşısının içeriğine daha sonraları başka ülkelerde *Bordetella pertussis*' in bir dış membran proteini olan 69 kDa protein (pertaktin) ve bu bakterinin kolonizasyonundan büyük ölçüde sorumlu olan fimbria 2 ve 3 proteinleri de ilave edilmiştir. Aşı formülasyonu ise değişik üreticiler tarafından farklı olarak belirlenmiştir. **Kardaş ve Özcengiz** 69 kDa proteinini iyon değiştirici kolon kromatografi ve iyon değiştirici membran yöntemlerini kullanarak izole etmişlerdir (**Kardaş Ö ve Özcengiz E., 1999**). Aynı laboratuvarında, **Atakan ve arkadaşları** *B. pertussis* fibriya proteinlerini kolon kromatografiden tek aşamada hızlı ve kolay bir yöntemle saflaştırmış ve fimbria 2 ve 3 alt birimlerini elektroforetik ve antijenik olarak incelemişlerdir (**Atakan Ablay P ve ark., 2003**). Araştırmacılar, Fim 2 ve 3 dağılımının suşlarda gösterdiği farklılıkların, PT, FHA ve AC(adenilat siklaz) gibi diğer önemli komponentlerin sentezlenme düzeyleri ile ilişkisinin olmadığını belirlemişlerdir. Bu çalışmada, saf fibriya proteinleri ile yapılan bağışıklama çalışmalarında tek başına fibriya proteininin farelerde tam hücre bağışıklamasına göre önemli derecede yüksek mikroagglutinasyon antikor yanıtı oluşturduğu bildirilmiştir. Yazarlar, *Bordetella pertussis* Saadet suşunun fimbria 2 ve 3 proteinlerini antijenik olarak kuvvetli ve yüksek düzeyde sentezlediğini ileri sürmüşlerdir. Bu bulgular, daha önce yüksek PT sentezleme yeteneği ile oldukça toksijenik olarak tanımlanan Saadet suşunun aynı zamanda güçlü ve kararlı antijenik özelliğinin, sahip olduğu fibriya proteinlerinin düzeyi ve yapısı ile ilgili olduğunu düşündürmüştür.

Bordetella cinsinin bir diğer türü ve *B. pertussis* ile pek çok yapısal ve antijenik benzerliği bulunan *B. bronchiseptica*'nin patogenez ve immünojeniteden sorumlu komponentlerini Büyüktanır ve arkadaşları araştırmışlardır (**Büyüktanır Ö. ve ark. 2003**). Bu çalışmada, *B. bronchiseptica*'nin adenilat siklaz (AC) toksinini oldukça yüksek düzeyde sentezlediği ve suşların çoğunda gözlenen letal etki ile AC sentezi arasında ilişki olduğu görülmüştür. Araştırmacılar, *B. bronchiseptica*'dan izole ettikleri ve üçlü protein grubu olarak tanımladıkları FimD-35 kDa protein - Fimbria proteinleri' in bağışık yanıtın oluşumunda önemli olduğunu bildirmişlerdir. Kuvvetli

ifade edildiği suşlardan elde edilen bu protein grubunun, düşük humoral yanıt oluşturmaya karşın, fareleri 4 LD₅₀ periton içi bakteri enjeksiyonuna karşı yüksek oranda koruduğu ileri sürülmüştür.

Sonuç

Ülkemizde aşı araştırmaları Cumhuriyet dönemi itibariyle esas olarak Refik Saydam Hıfızısıhha Merkezi'nde gerçekleştirilmiştir. Şu anda bu merkezde, Aşı-Serum Üretim ve Araştırma Bölümü'nde, rekombinant Hepatit B aşısı geliştirilmesi çalışmaları, hücre-siz boğmaca aşısı üzerine araştırma çalışmaları, ulusal standart aşı geliştirilmesi çalışmaları ve mikrosfer kapsüle Hepatit B DNA aşısı çalışmaları başlıca araştırma faaliyetlerini oluşturmaktadır. Yakın gelecekte ise, mukozal immünite, kontrollü salınım yapan mikrosfer kapsüle kombine ve konjuge aşı çalışmaları ile kızamık aşısı üzerine araştırmalar yürütülmesi hedeflenmiştir.

Aşı araştırmaları uygulama alanı bakımından insana yönelik en önemli araştırma konularından birisini oluşturmaktadır. Yeni keşfedilen bir aşının kullanıma girmesi için, laboratuvar çalışmaları, hayvan deneyleri ve gönüllü insanlarda yapılan uygulamaların titiz değerlendirmelerinin yapıldığı uzun bir süreç gereklidir. Bu nedenle toplumların bağışıklamayla önlenebilir hastalıklara karşı korunmada, gelişen ve değişen koşullara adapte olabilmesi aşı araştırmalarına vereceği önem kadar olacaktır.

Teşekkür

Bu makaleyi hazırlamamı benden isteyen Türk Tabipleri Birliği'ne, kaynaklara ulaşmamda yardımlarını gördüğüm Vet.Hek. Hülya Belen ve Mik.Uzm. Derya Ünver'e teşekkürlerimi sunarım.

Not: Kısa dönemde hazırlanan bu makalede, ülkemizde yapılmış ve bizim ulaşabildiğimiz aşı araştırmalarına yer verilmiştir. Bu yönde çalışmamız devam edecektir.

KAYNAKLAR

Açan H., Özlüarda D. (1959), Türkiye BCG Kampanyasında Pre-Vaksinasyon Allerji Neticelerinin Epidemiyolojik Değeri ve Post Vaksinasyon Allerji Virajı. *Türk. Hij. Den. Biyol. Der. Cilt XIX; Sayı : 110-121.*

Aksu HZS, Aksaray N, Satar M. (1987), The detection of protective tetanus antitoxin levels by ELISA in mothers and their babies cord blood. *İnfeksiyon Dergisi. 1:279-284.*

Akyay N. (1958), Türkiye'de Difteri Problemi ve Kitle İmmünizasyonu ile Eradication İmkânları. *Türk Hij. Den. Biyol. Der. XVIII; 2-3: 168-179.*

Akyay N. (1962), Tifo İmmünizasyonunda Yeni Gelişmeler. *Türk. Hij. Tec. Biyol. Derg. XXII, 1: 84-88.*

Akyay N. (1953), Son 10 Yıl İçinde Memleketimizde Difteri Vakalarının Tetkiki ve Bir İlk Okulda Yapılan Portör Araştırmaları Sonucu. *Türk. Hij. Den. Biyol. Derg. Cilt: XIII, Sayı 3; 201-220.*

Akyol G ve Baysal B. (1994), Toplumun Çeşitli Gruplarında Tetanoza Karşı Antitoksin Seviyelerinin Araştırılması. Mikrobiyol. Bül. 28:365-369.

Arı A. (1960), Türkiye'de Son Onbir Senelik (1949-1959) Semple Usulü Kuduz Aşı Tatbikatı Neticeleri. Türk Hij. Den. Biyol. Derg. XX : 280-289.

Arı A. (1963), Türkiye'de Ağızdan Verilen Sabin Tipi Attenüe Polio Aşısı Kampanyası (1) Pilot Çalışma Planlaması. Sağlık Dergisi Cilt:XXXVII, 5-6;24-33.

Arı A. (1964), Ördek Embriyo Orjinli İnaktive Kuduz Aşısı. Türk Hij. Tec. Biyol. Derg. 24: 19-25.

Arı A. (1966), Kuduz Aşı Virus (Virus Fix) in Özellikleri Hakkında Düşünceler ve Çalışmalarımız. Mikrobiyol.Bült. 1:1; 32-37.

Arı A. (1966), Canlı Attenüe Kızamık Virus Aşısı ve Memleketimizdeki Küçük Ölçüdeki Uygulama Sonuçları. Türk Hij.Tec. Biyol. Derg. Cilt:XXVI, 2; 130.

Atabay N ve Gökoğlu M. (1990), Serum antitoksin levels following tetanus immunization. Turkish J of Infect. 4: 601-608.

Atakan Ablay P., Uçantürk N., Özcengiz E. (2003), Fimbriae Purification and Immunogenicity of Bordetella pertussis strains. Microbiologia Balkanica 3rd Balkan Conference of Microbiology – İstanbul. Proceedings and Abstract Book, 280.

Baecher S.(1940), Merkez Hıfzısıhha Müessesesinden Türkiye'de Kuduz Aşısı Tatbikatı.Türk. Hıf.Tec. Biyol. Mec. Cilt 2, No 1.

Baecher S. (1944), Tifüs Aşısı Titrasyonu Hakkında. Türk Hıf. Tec. Biyol. Derg. Cilt: 4;1-16.

Batum A.K. (1977), Türkiye'de Difteri Profilaksisinde Son 18 Yıllık Çalışmalar ve Alınan Sonuçlar (1957-1974).Türk Hij. Den. Biyol. Derg. Cilt 36, Sayı 3 ; 267-272.

Baykan N. ve Öner G. (1970), Attenué Kızamık Aşısının Pilot Tatbikatı ve Kontrol Grupları ile Çalışma Gruplarının Mukayeseleri. Sağlık Dergisi XLIV : 5-6; 61-71.

Berke Z. ve Arı A. (1960), Türkiye'nin Akdeniz ve Doğu Karadeniz Bölgesinde 0-9 Yaşları Arasında Olan Çocuklarda Poliyomyelitis Antikor Seviyesi. Türk Hij. Tec. Biyol. Derg. Cilt: XX, 3; 342-347.

Berkin T.Ş. (1949), Türkiye'de BCG Aşısı Hazırlanması ve Tatbikatı. Türk Hij.Tec. Biyol.Der. Cilt:IX; Sayı 1: 44-60

Büyüktanır Ö, Akan M., Özcengiz E. (2003), Virulence Factors and Immunogenicity of Bordetella bronchiseptica Strains. Microbiologia Balkanica 3rd Balkan Conference of Microbiology – İstanbul. Proceedings and Abstract Book, 267.

Cansun C, Payzın S. (1949), Difteri Toksini İstihsalinde Sentetik ve Semisentetik Vasatlarda Yapılan Çalışmalar. Türk Hij Tec Biyol Derg. 9;57-77.

Ceran R., Okuyan M. (1978), Türkiye'de Aşı Üretiminde Kullanılan Vaccinia Virus Suşu Üzerinde Çalışmalar. Mikrobiyol. Bül. 12:4; 395-403.

Çetin C, Sönmez E, Bayındır Y, Şerefhanoglu K, Günel S. (2000), Malatya Yöresinde Tetanoz İmmünitesi. Flora 5(2): 135-141.

Çilesiz A. (1949), Türkiye'de Semple Usulü İle Kuduz Aşısı Tatbikatı ve 16 Senelik (1933-1948) Neticeleri. Türk Hij. Tec. Biyol. Derg. 9: 2; 24-53.

Dramur R. (1977), Uluslararası Dördüncü Türk Kültürü Kongresi Bildirileri, Ankara 4-7 Kasım 1997, c.III, Atatürk Kültür Merkezi Yayınları, Ankara 2000, s169-179.

Dündar T. (1976), Türkiye'de Boğmaca Profilaksisinde Son 18 Yıllık Çalışmalar ve Alınan Sonuçlar (1957-1974). Türk.Hij. Den. Biyo. Der. 36; 1: 59-69.

Dündar T. (1977), Türkiye'de Son 25 Yıl İçinde (1951-1975) Uygulanan Difteri Aşısı, Tüketilen Difteri Serumu İle İhbar Edilen Difteri Vakaları Arasındaki İlişkiler. Türk Hij.Den.Biyol.Derg.Cilt 36, Sayı 3 ; 273-281

Eratlay A., Öner F., Özcengiz E., Hıncal A.A.(1998), Adjuvant Carriers For Recombinant Hepatitis B Virus Surface Antigen. Proc.2nd World Meeting, APGI/APV, 1127-1128, Paris.

Erbaşoğlu O. (1976), Çeşitli Kültür Vasatlarında Tetanoz Toksin Titresini Arttırıcı Faktörlerin İncelenmesi Değişik Titledeki Toksoidlerin Kobaylarda Bağışıklık Durumunun In vivo ve In vitro Testlerle Değerlendirilmesi. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Bakteriyoloji Kürsüsü. (Doktora Tezi).

Erzin N. (1956), Türkiye BCG Kampanyasının 1955 Senesi Faaliyeti. Türk.Hij.Den.Biyol. Der. Cilt XVI; Sayı 1: 110-111.

Erzin N. (1957), 1955 ve 1956 Seneleri Türkiye BCG Kampanyası Faaliyeti. Türk Hij. Den. Biyol. Derg. Cilt:XVII;Sayı 1-2106-110.

Fişek NH, Mueller JH, Miller PA. (1954), Muscle extractives in the production of tetanus toxin. J Bact. 67

Gedikoğlu S ve Kılıçturgay K. (1990), ELISA determination of tetanus antitoxin levels in Bursa. Turkish J of Infect. 4:235-239.

Gotschlich E ve Golem SB. (1940), Virulansı Azaltılmış Hayattar Tularemi Suşlarıyla Muafiyet Tecrübeleri. Türk Hij. Den. Biyol. Mec. 2: 1; 157-167.

Gören S. (1951),Tetanoz Anatoksini ile Bağışıklığın Artmasında hydroxyde d'aluminum'un Yardımcı Rolü. Türk Hij. Den. Biyo. Der. Cilt:XI, Sayı 1.

Gören S ve Akyay N., (1956), Tifo aşısının Aktivitesini Tayinde Kullanılan Metodlar ve Buna Dayanılarak Aşıların Değerlendirilmesi Üzerinde Kritikli Bir Etüd. Türk Hij. Tec. Biyol. Derg. XVI : 141-163.

Gülmezoğlu E. (1956), Mayı Vasatta Boğmaca Aşısı Hazırlanması ve İmmünizan Kudreti Üzerine Araştırmalar. Türk Hij.Den.Biyo.Der. 16: 3; 274-280.

Gürsel M., Tunca S., Özkan M., Özcengiz G., Alaeddinoğlu G. (1999), Immunadjuvant action of plazmid DNA in liposomes. Vaccine 17(11-12):1376-83.

Hakgüdener Y. (1976), Difteri Toksoidi Primer Zerkinden Sonra Farelerin Çeşitli Doku ve Organlarında Bağışıklal Tepkimenin Araştırılması. Mikrobiyol.Bült. 10:2; 149-160.

Heimbeck J. (Çeviren: Niyazi Erzin), (1949). Tüberküloza Karşı Koruyucu BCG Aşısının Prencip ve

Neticeleri. Türk. Hij. Den. Biyol. Der. Cilt: IX, Sayı 3.

Karagöl Z ve Sesveren A. (1969), Powell Besiyerinde (Modifiye Cohen-Wheeler) Boğmaca Aşısı Üretimi. Türk Hij. Tec. Biyol. Derg. XXIX: 2;245-250.

Karagöl Z. (1977), Tetanoz Aşısı Uygulamasındaki Tarihsel Gelişmeler ve Sonuçları. Türk Hij. Den. Biyol. Der. Cilt:36:283-290.

Kardaş Ö. ve Özcengiz E. (1999), Bordetella pertussis 69 kDa Proteinin Hızlı Kromatografi Yöntemi ile Saflaştırılması. VI.Ulusal Halk Sağlığı Günleri,Türkiye'de 2000'e Doğru Bulaşıcı Hastalıklar Sorunu, 6-9 Ekim Malatya, Bildiri Özet Kitabı, s. 38.

Menteşoğlu A. (1944), Kızıl Aşısı Tatbikatı. Türk. Hij. Den. Biyol. Der. Cilt IV; 31-33.

Özcengiz E. (1990), Bordetella pertussis' in Antijenik, Biyolojik Aktif Yapıları ve Yeni Hücreless Boğmaca Aşısı. KÜKEM Dergisi 13: 1; 15-21.

Özcengiz E. ve Günalp A. (1990), (1) Bordetella pertussis Ekzotoksinlerinden Lenfositozis Promoting Faktör (LPF) ve Filamentöz Hemagglutinin (FHA)'nın Yeni Bir Yöntemle Saflaştırılması. Doğa-Tr.J.of Medical Sciences. 14: 315- 323.

Özcengiz E. ve Günalp A. (1990), (2) Bordetella pertussis Ekzotoksinlerinden Lenfositozis Promoting Faktör (LPF) ve Filamentöz Hemagglutinin (FHA)'nın Değişik Sıvı Besiyerlerinde Sentez Miktarı. Doğa-Tr.J. of Medical Sciences. 14: 307-314.

Özcengiz E. ve Günalp A. (1991), Lenfositozis Promoting Factor (LPF) ve Filamentöz Hemagglutinin (FHA) Moleküllerinin Bağışıklama Gücünün Farelerde Burunçi Challenge Yoluyla Belirlenmesi. Mikrobiyol. Bult. 25: 131-137.

Özcengiz E., Çayan HH., Usta E., Şahin M. (1993), Tetanoz Aşısının Bağışıklama Gücünün İndirekt Hemagglutinasyon (IHA) Yöntemiyle Belirlenmesi. Türk Hij. Den. Biyol. Derg. 50: 2; 97-101.

Özcengiz E., Hacıömeroğlu M., Tarhan G., Akkuş M. (1998), Difteri Toksininin Hızlı Saflaştırılması. Mikrobiyol Bult. 32:123-130.

Özcengiz E., Ünver SD., Çayan HH., Büyüktanır Ö. (2003), Adsorbe Tetanoz Aşısı Proses Geliştirme ve Üretimi (Yayına sunuldu).

Özluarda E. (1959). Çiçek Aşısının Tavuk Embriyonu Koriyo-Allantoik Zarında Pok Sayımı Metodu ile Titrasi. Tr.Hij.Den.Biyo.Der. XIX, 59-62.

Özluarda E. (1965), Memleketimizde kuru çiçek aşısı istihsalı ve yaş aşı ile mukayeseli olarak yapılan uygulamadan alınan sonuçlar. Türk Hij.Tec.Biyol.Derg. 25;129-152.

Özluarda E. (1967), Gliserinli ve Kuru Çiçek Aşılarının Efikasite Kontrolü Uygulaması.Türk Hij.Tec.Biyol.Derg. 27;1;5-13.

Özluarda E. (1971), Çiçek Aşısı Komplikasyonları, Kontra-Endikasyonları ve Diğer Aşılarla Smultane Uygulaması Hakkında. Türk Hij. Tec.Biyo.Der. Cilt:XXXI, Sayı 3.

Özluarda E., Gürel M., Akyıldız İ., Doğan A., Keskin M.A. (1978), RESAMENS Kuduz Aşısı Dozajı Çalışmaları. Türk Hij.Den.Biyol.Derg. Cilt:37, Sayı:1: 887-98.

Palavan H. (1947), Kuduz virusunu üretme teşebbüsleri. Tıp Fakültesi Mecmuası. Cilt:10; Sayı.2.

Payzın S. ve Göksel V. (1944), Müren ve Cox Tifüs Aşılarının Koruma Kudretleri Hakkında Düşünceler. Türk Hij Den Biyol Der. Cilt: IV; 5-23.

Payzın S ve Akyay N. (1948), Türkiye'de İlk Boğmaca Aşısı İstihsalı ve Bunun Tatbikatından Alınan Sonuçlar. Türk.Hij. ve Biyoloji Der. Cilt 8 Sayı 3; 103-109.

Payzın S ve Akyay N. (1949), Bayındır Boğmaca Salgını ve Yerli Aşıyla Tedaviden Alınan Sonuçlar. Türk.Hij. ve Biyoloji Der. Cilt 9 Sayı 1; 86-91.

Sungur C.,(1975), Abidinpaşa Sosyalizasyon Bölgesinde Üç Yıl Süre İle İzlenen Çiçek Aşısı Uygulamaları ve Komplikasyonları Üzerinde Araştırmalar. Ank.Ünv.Tıp Fak. Mec. Cilt:XXVIII , Sayı 1-2 (Ek:89).

Şentürk R. Statik Kültür Metodu İle Yüksek Potensli Difteri Toksini Üretimi. Mikrobiyoloji Bülteni (Orijinal dergiye ulaşılamamıştır).

Tarhan G, Özcengiz E. (1995), Değişik Bordetella pertussis Suşlarının Bağışıklama Gücü ve Patojeniteleri. Mikrobiyol Bult. 29: 219 -226.

Toppare S ve Erbaşoğlu O. (1976), Tetanoza Karşı Aktif İmmunizasyon ve Değerlendirilmesi. Mikrobiyol.Bult. 10:2;168.

Tulga T. (1960), Mueller Vasatı İle Geniş Ölçüde Yüksek Üniteli Tetanoz Toksini Tetanoz Serum ve Aşısı Prodüksiyonu. Türk Hij. Den. Biyol. Der. Cilt XX: Sayı 2; 229- 238.

Tulga T. (1969), Kolera Aşısı Üretimi. Türk Hij. Tec. Biyol.Derg. Cilt:XXIX :1; 78-88.

Tunçman Z.M. (1957), İstanbul Kuduz Müessesesinin Kuruluşunun 70 inci Yıl Dönümü Münasebetiyle, 1887-1957. Sıhhat ve İctimai Muavenet Vekaleti, İstanbul Kuduz Tedavi Müessesesi Neşriyatı.

Tunçman Z.M. (1949), 1932-1948 Yıllarında Tatbik Edilen Kuduz Aşısından Elde Edilen Sonuçlar.Mikrobiyoloji Dergisi 11:3.

Türkay N. (1954), Türkiye'de 1953 Yılı İçinde Semple Kuduz Aşısı Tatbikatı İle Ankara Refik Saydam Hıfzıssıhha Enstitüsünde Högyes-Phillips Metodu İle Aşı Tatbikatından Alınan Neticeler. Türk hij.Tec. Biyol. Derg. XIV: 1 ; 62-78.

Unat E.K. (1948), Tıp Tarihi Araştırmaları-2, İstanbul. Ünver A.S., 1948. Türkiye'de Çiçek Aşısı ve Tarihi.

Ünver SD ve Özcengiz E. (1990), Kombine Aşılarla Difteri Komponentinin Koruyucu gücünün İndirekt Hemagglutinasyon (IHA) Yöntemiyle Belirlenmesi. Mikrobiyol Bult. 24: 327-335.

Yılmaz N ve Artuk Ç. (1994), Kızamık Aşısı ve Maternal Antikorların Aşılamadaki Rolü. Türk Hij. Den. Biyo. Der. Cilt 51; 1.