

# HAYVAN ISIRIĞINA MARUZ KALMIŞ KİŞİLERDE KUDUZ AŞILAMASI SONRASI ANTİKOR DÜZEYİNİN ARAŞTIRILMASI\*

## INVESTIGATION OF ANTIBODY LEVELS FOLLOWING RABIES VACCINATION IN THE SUBJECTS WHO WERE BITEN BY ANIMALS

Bülent BAYSAL<sup>1</sup>, Selma TOSUN<sup>2</sup>, Mehmet ÖZDEMİR<sup>1</sup>, Metin DOĞAN<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Konya. (mehmetozdem@yahoo.com)

<sup>2</sup> Manisa Devlet Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği, Manisa.

### ÖZET

Kuduz, gelişmekte olan ülkelerde hala önemli bir halk sağlığı problemi olmaya devam etmektedir. Kuduz virusuna maruz kalması muhtemel bir kişinin, hayvan ısırmasından sonra mümkün olan en kısa zamanda aşılama programına alınması gerekmektedir. Daha önce aşılanmış kişilerin kuduz virusu ile tekrar karşılaşması durumunda aşılama programının yinelenmesi gerekliliği ise açık değildir. Bu çalışmada kuduz aşısı uygulanan kişilerde koruyucu antikor düzeyinin araştırılması ve aşılama sayısı ile koruyucu antikor titresi arasındaki ilişkinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmaya, Manisa Devlet Hastanesi Kuduz Takip Merkezine şüpheli hayvan ısırığı nedeniyle başvuran 2-90 yaş arasında (yaş ortalaması: 35.7 yıl) toplam 186 kişi (60 kadın, 126 erkek) dahil edilmiştir. Bu bireylerin 135'ine Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından önerilen iki farklı aşılama programı uygulanırken, 51 kişinin aşılaması gözlem süresinde ısırılan hayvanın kuduz olmadığına anlaşıldığından dolayı 2. ya da 3. dozdan sonra durdurulmuştur. Beş dozluk birinci aşılama programı (0, 3, 7, 14 ve 30. günler) 20 bireye, 4 dozluk diğer aşı programı (0, 2, 7, 21. günler) ise 115 bireye uygulanmıştır. Uygulama, HDCV aşısının kas içi enjeksiyonu şeklinde yapılmış; aşılama programından 3-36 ay sonra tekrar çağırılan aşılananlardan alınan serumlarda kuduz virusuna özgül nötralizan IgG antikor titreleri ticari bir ELISA kiti ile (Platelia Rabies II, Bio-Rad, France) araştırılmıştır. İki veya daha fazla dozda HDCV aşısı uygulanan toplam 186 bireyin 116 (%62.4)'sında IgG antikorları koruyucu düzeyde (pozitif  $\geq 0.5$  IU/ml) bulunurken, 70 (%37.6)'inde koruyucu düzeyin altında (negatif) saptanmıştır. IgG pozitiflik oranı 2 ve 3 doz aşı yapılan gruplarda (sırasıyla; %54.5 ve %55.1), 4 ve 5 doz aşı yapılan gruplara (sırasıyla; %64.3 ve %70) göre daha düşük görünmekle birlikte gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ). Sonuç olarak, aşılama programı tamamlanmış bireylerde bile koruyucu antikor pozitiflik oranının düşük (%70) düzeyde kalmasının, aşılanan kişinin yaşı, aşılamadan sonra geçen zaman, aşılanmanın sayısı ve aşının saklanma/taşıma koşulları ile ilişkili oldu-

\* Bu çalışma, 30 Ekim 2006 tarihinde Bişkek'te yapılan "The First International Congress of Central Asia Infectious Diseases" Kongresinde poster olarak sunulmuştur.

ğu düşünülmüş ve bu kişilerin kuduz virusuna tekrar maruz kalma durumunda olanak varsa antikor titrelerinin koruyucu olup olmadığının kontrol edilmesi, yoksa düşük antikor düzeyi ihtimalinden dolayı özellikle de bir yıldan uzun süre geçmişse tekrar aşılanması gerektiği kanısına varılmıştır.

**Anahtar sözcükler:** Kuduz, aşı, HDCV, antikor düzeyi, hayvan ısırığı.

## ABSTRACT

Rabies is still an important public health problem in developing countries. Vaccination against rabies should be initiated as soon as possible following the suspicious bite. It is not yet clear whether previously vaccinated people should be re-vaccinated in case of re-exposure to rabies virus. In this study it is aimed to determine the antibody titer in sera of vaccinated people and also to evaluate the relation between the antibody titer and number of vaccination. The study group consisted of 186 persons (60 female, 126 male) aged between 2-90 years (mean: 35.7 years) and who were admitted to Manisa State Hospital Rabies Follow-up Center, Turkey. Hundred and thirty five of the cases were vaccinated according to the programmes advised by WHO's reference protocol for post-exposure rabies vaccination. However, vaccination was discontinued for 51 of the cases since the follow-up of the suspicious animal revealed that it was not rabid. Five-dose vaccination programme (on days 0, 3, 7, 14, and 30) was applied to 20 cases and four-dose programme (on days 0, 2, 7, 21) was applied to 115 cases. HDCV vaccine was applied as intramuscular injection and after 3-36 months following vaccination, rabies specific neutralizing IgG antibody titers were determined by using a commercial ELISA kit (Platelia Rabies II, Bio-Rad, France). While the titer of IgG antibodies were within the protective limits (positive,  $\geq 0.5$  IU/ml) in 116 (62.4%) of the 186 cases who were given two or more doses of HDCV, the titer was below the protective level (negative) in 70 (37.6%) of the cases. Although the rates of IgG positivity in two and three dose vaccine applied group (54.5% and 55.1%, respectively) were lower than the rates in four and five dose applied group (64.3% and 70%, respectively), the difference was not statistically significant ( $p > 0.05$ ). These results denoted that the rate of protective antibody positivity was low (70%) even in full programme vaccinated cases and this might be attributed to age of the person, the length of time after vaccination, number of vaccinations and storage/transport condition of the vaccine. Thus in case of re-exposure of vaccinated people to rabies virus, it is recommended to check the anti-rabies antibody titers if possible or to re-vaccinate those people with a history of prior vaccination exceeding one year since there is high probability of low level of protective antibodies.

**Key words:** Rabies, vaccine, HDCV, antibody level, animal bite.

## GİRİŞ

Kuduz, aşı ile önlenilebilen bir viral zoonozdur. Hem insanlar hem de hayvanlar için güvenilir ve etkili bir aşının mevcudiyetine rağmen kuduz, Afrika, Güney Amerika ve Asya/Avrasya ülkelerinin birçoğunda hala ciddi bir halk sağlığı problemi olmaya devam etmektedir<sup>1</sup>. Enfeksiyon, hayvanlardan insanlara yırtık, tırmalama ve ısırma gibi yollarla salyadaki virusun bulaşını takiben gelişmekte ve fatal ensefalit ile seyretmektedir. Çoğu Asya ve Afrika ülkelerinde olmak üzere kuduz nedeniyle yılda 55.000 ölüm ortaya çıkmakta ve ölümlerin %30-50'si 15 yaş altı çocuklarda görülmektedir<sup>2</sup>. Bilindiği gibi en sık rastlanan bulaş yolu, kuduz köpekler tarafından ısırılmaktır. Gelişmiş ülkelerde hayvanlarda kuduz görülebilmesine rağmen insanlarda görülmemektedir. Son yıllarda Tayland, Filipinler, Sri Lanka gibi Asya ülkelerinde kuduzdan ölüm oranının azalmasına rağmen, Hin-

distan, Pakistan ve Bangladeş gibi ülkelerde ölüm oranlarında azalma söz konusu değildir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), Asya ülkelerinde özellikle Hindistan'daki kuduz ölümlerini azaltmak için ciddi çalışmalarda bulunmaktadır. Bu bağlamda, Temmuz 2002 tarihinde yapılan uluslararası bir toplantıda bazı stratejik kararlar alınmış ve öncelikle Asya ülkelerinde ölümlerin azaltılması sonra da tamamen ortadan kaldırılması hedeflenmiştir<sup>2</sup>. Ülkemizde Sağlık Bakanlığının rutin aşılama için kullandığı HDCV (Human Diploid Cell Rabies Vaccine) aşısının yanında PVRV (Purified Vero Rabies Vaccine) de dünyada aşılamada başarı ile kullanılmaktadır<sup>3-5</sup>.

Aşılama programına alınan kişilerde aşı uygulaması, ısırın veya tırmalayan hayvanın kuduz olmadığı kanıtlandığında durdurulmakta; hayvanın kuduz olmadığına ispat edilemediği durumlarda ise aşılama tamamlanmaktadır. Daha önceden aşılanmış kişilerin tekrar virus ile karşılaşması halinde aşılama programının tekrarına gerek olup olmadığı konusu ise tartışmalıdır. Bu konunun aydınlatılması amacıyla sunulan çalışmada, aşılama sayısı ile koruyucu antikor titresi arasındaki ilişkinin araştırılması ve aşılanan kişilerin serumunda nötralizan antikor düzeyinin belirlenmesi planlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmaya, Manisa Devlet Hastanesi Kuduz Takip Merkezi'ne şüpheli hayvan ısırması nedeniyle başvuran 2-90 yaş arasında (yaş ortalaması: 35.7 yıl) toplam 186 kişi (60 kadın, 126 erkek) dahil edildi. Bu bireylerin 135'ine DSÖ tarafından önerilen iki farklı aşılama programı uygulanırken, 51 kişinin aşılaması gözlem süresinde ısırın hayvanın kuduz olmadığı anlaşıldığından dolayı 2. ya da 3. dozdan sonra durduruldu. Beş dozluk birinci aşılama programı (0, 3, 7, 14 ve 30. günler) 20 hastaya, 4 dozluk diğer aşı programı (0, 2, 7, 21. günler) ise 115 hastaya uygulandı.

Her iki aşılama programında da HDCV aşıları kas içi (IM) enjeksiyon şeklinde uygulandı. Aşılama programından 3-36 ay sonrası aşılananlar geri çağrılarak her birinden 5 ml kan alındı ve serumları ayrılarak çalışılınca kadar -20°C'de saklandı. Bu serumlarda kuduz virusuna özgül nötralizan IgG antikor titreleri ticari bir ELISA kiti ile (Platelia Rabies II, Bio-Rad, Marnes-La-Coquette, France) Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarında çalışıldı. Değerlendirmede, 0.5 IU/ml ve üzerindeki titreler koruyucu antikor pozitifliği olarak kabul edildi.

İstatistiksel değerlendirmede, gruplar arası farklılık SPSS 13.0 programı yardımıyla araştırıldı ve  $p < 0.05$  değeri anlamlı olarak kabul edildi.

## BULGULAR

Çalışmamızda, toplam 186 bireyin 116 (%62.4)'sında IgG koruyucu düzeyde (pozitif) bulunurken, 70 (%37.6)'inde koruyucu düzeyin altında (negatif) saptanmıştır. IgG pozitiflik oranı 2 ve 3 doz aşı yapılan gruplarda, 4 ve 5 doz aşı yapılan gruplara göre daha düşük görünmekle birlikte gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmemiştir (Tablo I).

**Tablo 1.** Farklı Dozlarda HDCV Aşısı Yapılan Kişilerde Aşılama Sayısı ile IgG Pozitifliği Arasındaki İlişki

Aşılama sayısı	Aşılanan kişi sayısı	IgG pozitif kişi sayısı	IgG negatif kişi sayısı	Pozitiflik oranı (%)	p
2	22	12	10	54.5	0.48
3	29	16	13	55.1	0.45
4	115	74	41	64.3	0.58
5	20	14	6	70.0	0.48
Toplam	186	116	70	62.4	

## TARTIŞMA

Kuduz, hayvanlardan eradike edilinceye ya da en azından kontrol altına alınıncaya kadar temas öncesi aşılama göre daha iyi bir seçenek olan temas sonrası tedaviler daha ekonomik ve güvenli bir alternatif olarak görünmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde önlenemeyen kuduz olgularından dolayı insanlar ve hayvanlar için yapılan harcamalar artma eğilimi göstermektedir. Bu tedaviler içinde aşılama en önemli yeri tutmaktadır<sup>5,6</sup>. Kuduz aşısının indüklediği immün yanıt ve oluşan antikor düzeyleri birçok faktöre bağlı olarak değişebilir. Bunlar arasında kişinin yaşı, immün yeterlilik durumu, aşılama sonrası geçen süre, aşılama sayısı ve aşının saklama/taşıma koşulları sayılabilir<sup>3,7</sup>.

Tüm dünyada yaygın olarak kullanılan HDCV ve PVRV aşısının etkinliği birçok çalışmada karşılaştırılmış ve benzer etkinlikte olduğu sonucuna varılmıştır<sup>3,4,8,9</sup>. Geliştirilmiş bir diğer aşı olan PCECV (Purified Chick Embryo Cell Rabies Vaccine) de temas sonrası olgularda başarıyla kullanılmaktadır<sup>9</sup>. Bunların yanı sıra IM uygulanan aşılar alternatif olarak düşünülen ve aşının miktarını ve maliyetini azaltmaya yönelik çalışmalar sonucu geliştirilen intradermal (ID) aşılar da 1992 yılından beri DSÖ tarafından önerilmekte olup 0., 3., 7. günlerde ikişer doz ve 30 ve 90. günlerde birer doz olarak uygulanmaktadır<sup>10-12</sup>.

Çalışmamızda, hayvan ısırığına maruz kalmış 186 kişi Sağlık Bakanlığının rutin aşılama kullandığı HDCV ile aşılama programına alınmış, ancak 22 bireyin aşılması 2 dozdan sonra, 29 bireyin aşılması ise 3 dozdan sonra ısırılan hayvanın kuduz olmadığına anlaşılması nedeniyle durdurulmuştur. Buna karşın 20 bireyin aşılması 4 doz olarak, 115 bireyin aşılması ise 5 doz olarak tamamlanmıştır. Bu kişilerde koruyucu antikor düzeyleri araştırıldığında; 2 ve 3 doz aşı uygulananlarda sırasıyla saptanan %54.5 ve %55.1'lik IgG pozitiflik oranları, 4 doz aşılananlarda %64.3'e yükselmiş, 5 doz aşılananlarda ise %70'e ulaşmıştır. Bu veriler, aşılama sayısı ile koruyucu antikor düzeylerinin sağlanması arasında pozitif bir korelasyon olduğunu göstermekle birlikte gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Aşılama sayısı ile artan koruyucu antikor düzeyi, aşılama beklenen değerden düşüktür. Bu durumdan aşının saklama/taşıma koşulları sorumlu olmuş olabilir. Ayrıca çalışmamızda her ne kadar aşılama sonrası geçen süre 3 ila 36 ay arasında değişmekte ise de her bir birey için bu süre kesin olarak bilinmediğinden herhangi bir yorum yapılamamıştır.

Sonuç olarak, aşılama programı tamamlanmış bireylerde bile koruyucu antikor pozitiflik oranının %70 düzeyinde kalması, bu kişilerin kuduz virusuna tekrar maruz kalma durumunda yeniden değerlendirilmesi gerektiğini düşündürmektedir. Böyle bir durumda, daha önceden aşılanma öyküsü olan bireylerin antikor titresine bakılarak koruyucu antikor düzeyine sahip olup olmadığına karar verilmeli, titre yetersizse tekrar aşılama programına alınmalıdır. Kuduz IgG düzeylerinin çalışılmadığı durumlarda ise, özellikle aşılamadan sonra bir yıldan uzun süre geçmişse aşılama sayısına bakılmaksızın aşılama programı başlatılmalıdır.

## KAYNAKLAR

1. Madhusudana SN, Sanjay TV, Mahendra BJ, et al. Comparison of safety and immunogenicity of purified chick embryo cell rabies vaccine (PCEV) and purified vero cell rabies vaccine (PVRV) using the Thai Red Cross intradermal regimen at a dose of 0.1 ML. *Hum Vaccin* 2006; 2: 200-4.
2. <http://www.who.int/rabies/en/>
3. Büke M, Büke Ç, Yegane S, Badak Z. The protective effect of second generation purified vero rabies vaccine on healthy volunteers. *Turk J Infect* 1996; 10: 373-5.
4. Lang J, Attanath P, Quiambao B, et al. Evaluation of the safety, immunogenicity, and pharmacokinetic profile of a new, highly purified, heat-treated equine rabies immunoglobulin, administered either alone or in association with a purified, Vero-cell rabies vaccine. *Acta Tropica* 1998; 70: 317-33.
5. Sudarshan MK, Mahendra BJ, Madhusudana SN, et al. Assessing the relationship between antigenicity and immunogenicity of human rabies vaccines: results of a meta-analysis. *Hum Vaccin* 2005; 1: 187-90.
6. Kositprapa C, Limsuwun K, Wilde H, et al. Immune response to simulated postexposure rabies booster vaccinations in volunteers who received preexposure vaccinations. *Clin Infect Dis* 1997; 25: 614-6.
7. Sabchareon A, Chantavanich P, Pasuralertsakul S, et al. Persistence of antibodies in children after intradermal or intramuscular administration of preexposure primary and booster immunizations with purified Vero cell rabies vaccine. *Pediatr Infect Dis J* 1998; 17: 1001-7.
8. Quiambao BP, Lang J, Vital S, et al. Immunogenicity and effectiveness of post-exposure rabies prophylaxis with a new chromatographically purified Vero-cell rabies vaccine (CPRV): a two-stage randomised clinical trial in the Philippines. *Acta Tropica* 2000; 75: 39-52.
9. Lang J, Cetre JC, Picot N, et al. Immunogenicity and safety in adults of a new chromatographically purified vero-cell rabies vaccine (CPRV): a randomized, double-blind trial with purified vero-cell rabies vaccine (PVRV). *Vaccine* 2001;19: 4635-43.
10. Tantawichien T, Benjavongkulchai M, Limsuwan K, et al. Antibody response after a four-site intradermal booster vaccination with cell-culture rabies vaccine. *Clin Infect Dis* 1999; 28: 1100-3.
11. Jaijaroensup W, Limusanno S, Khawplod P, et al. Immunogenicity of rabies postexposure booster injections in subjects who had previously received intradermal preexposure vaccination. *J Travel Med* 1999; 6: 234-7.
12. Beran J, Honegr K, Banzhoff A, Malerczyk C. Potency requirements of rabies vaccines administered intradermally using the Thai Red Cross regimen: investigation of the immunogenicity of serially diluted purified chick embryo cell rabies vaccine. *Vaccine* 2005; 23: 3902-7.