



Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni

Bulletin of Veterinary Pharmacology and Toxicology Association

e-ISSN: 2667-8381

Gazel Ayça KURTBEYOĞLU^{1,2a*}
Mehmet AKAN^{2b}

¹Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara
²Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veterinerlik Mikrobiyolojisi Anabilim Dalı, Ankara

ORCID^a: 0000-0002-5414-3598
ORCID^b: 0000-0002-7342-1450

*Sorumlu Yazar: Gazel Ayça KURTBEYOĞLU
E-Posta: kurtbeyoglu@ankara.edu.tr

Geliş Tarihi: 30.03.2023
Kabul Tarihi: 27.08.2023

14 (2): 98-107, 2023
DOI: 10.38137/vftd.1273600

Makale atf

Kurtbeyoğlu, G.A. ve Akan, M. (2023). Kanatlı Hayvanlarda Kullanılan Vektör Aşılar, Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni, 14 (2), 98-107. DOI: 10.38137/vftd.1273600.

KANATLI HAYVANLARDA KULLANILAN VEKTÖR AŞILAR

ÖZET. Aşılar, kanatlı hayvan hastalıklarının kontrolünde biyogüvenlik uygulamaları ile birlikte önemli bir yere sahiptir. Günümüzde konvansiyonel aşılarla ilave olarak özellikle tavuklarda vektör aşıların kullanımında önemli bir artış görülmektedir. Rekombinant aşı teknolojisinde patojenlere ait antijenleri kodlayan genler başka bir mikroorganizmaya aktarılmakta ve aşının uygulandığı hayvanın bağışıklık sistemi, bu antijenlerle uyarılmaktadır. Vektör aşıların oluşturulmasında sıklıkla viruslar kullanılmakta olup bakteriler ya da mayaların tercih edildiği çalışmalar da bulunmaktadır. Bu amaçla, tavuk çiçeği virusu (FPV), Hindi Herpesvirusu (HVT), Newcastle hastalığı virusu (NDV), Avian Lökozis Sarkoma Virus (ALSV) gibi viruslar vektör olarak seçilmektedir. Bu virusların yanı sıra Salmonella ve Campylobacter gibi bakterilerin vektör olarak kullanıldığı aşı araştırmaları da yapılmıştır. Bu derlemede kanatlı hayvan hastalıklarına yönelik geliştirilen vektör aşılarla ilgili bilgiler verilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Aşı, bağışıklık, kanatlı, vektör aşı.

VECTOR VACCINES FOR POULTRY

ABSTRACT. Vaccines are important in the control of the poultry diseases along with biosecurity measures. Today, vector vaccines which have lots of advantages compared to conventional vaccines stand out as a valuable alternative. In recombinant vector vaccine technology, antigens of various pathogens are delivered to another microorganism and the immune system of the vaccinated animal is stimulated by this vector. Viruses are frequently used in development of vector vaccines and bacteria or yeasts have also been preferred in some studies. For that purpose, viruses such as fowlpox virus (FPV), herpesvirus of turkeys (HVT), Newcastle disease virus (NDV), avian leukosis-sarcoma virus (ALSV) are selected as vectors. In addition to these viruses, some bacteria including Salmonella and Campylobacter have been used in some vaccine research. This review provides information on vector vaccines against various infectious diseases of poultry.

Keywords: Immunity, poultry, vaccine, vector vaccine.

GİRİŞ

Tarihi eski çağlara kadar uzanan, hasta bir kişiden etken taşıyan parçaların alınıp sağlıklı bir bireye aktarılmasıyla yapılan, neticesinde kişinin hastalığı ağır geçirmesini ya da hayatını kaybetmesini önleyen bir teknik olan variolizasyon, modern aşuların bulunmasında atılan ilk adım olarak kabul edilebilir. En eski kayıtlara göre on beşinci yüzyıldan önce Çin ve Hindistan'da uygulanan bu yöntem, İpekyolu üzerinden önce Osmanlı Devleti'ne, buradan da İngiltere'ye kadar ulaşmış, her ne kadar tam bir çare olmamışsa da yapılan denemelerin hastalığa karşı korumada başarılı olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmalarla birlikte mikrobiyoloji ve immünoloji konularındaki bilgi eksiklerine rağmen aşı kavramı ortaya çıkmaya başlamıştır (Tizard, 2020).

Edward Jenner'ın 1796 yılında yaptığı denemeler ile çiçek virüsü üzerindeki çalışmalarının başarıya ulaşması, 19. yüzyılda ise Louis Pasteur'un tavuk kolerası, antraks ve kuduz gibi hastalıklara karşı aşular geliştirmesiyle birlikte aşular, insan sağlığında olduğu kadar hayvan sağlığı açısından da büyük bir önem kazanmaya başlamıştır. Zaman içinde gelişen teknoloji ve bulunan farklı teknikler ile günümüze kadar çeşitli tiplerde aşular geliştirilmiş, bunlar sayesinde kimi hastalıklar eradike edilmiş, pek çoğu ise önlenabilir bir hale gelmiştir. Böylelikle aşular hem beşerî hem de veteriner tıpta hastalıklardan korunma konusunda en mühim araçlardan biri olmuştur (André, 2003; Shams, 2005; Tizard, 2020).

Hayvanlarla direkt temas ya da besinler aracılığıyla zoonoz etkenlerin insanlara bulaşma riski ve çiftlik hayvanları ile kümes hayvanlarının ekonomik değerleri göz önüne alındığında, hastalıkların yayılmasının engellenmesi, insan ve hayvan sağlığı için oldukça önemlidir. Bu amaçla, hayvanlarda hastalıklara karşı aktif bağışıklığı sağlayan, güvenli ve etkili aşular, diğer korunma yöntemleri arasında öne çıkmaktadır. Kanatlı hayvanlarda ve özellikle tavuklarda yetiştirme tiplerine bağlı olarak farklı aşuların kullanımı ile aşılama programları oluşturulmuş ve bu programların uygulanması ile sağlıklı ve yüksek performanslı sürülerin yetiştirilmesi mümkün olmuştur. Bu derlemede, kanatlılarda son yıllarda kullanımı artan rekombinant vektör aşular ve bu aşuların kullanımı ile ilgili temel bilgilerin verilmesi amaçlanmıştır.

VETERİNER HEKİMLİKTE AŞILAR

Geçmişten bu yana aşuların gelişimi incelendiğinde insan ile hayvan sağlığının birbiriyle bağlantılı olduğu, hali hazırda kullanılan ya da üzerinde çalışılan aşuların da önemli bir kısmının zoonoz hastalıklar için olduğu görülmektedir. Toplum sağlığına olan riskleri en aza indirmek için ilk olarak hayvanların bu zararlı etkenlerden korunması sağlanmalıdır, bunun için de günümüzde sıklıkla güvenliği ile etkinliği kanıtlanmış olan aşular tercih edilmektedir. Ayrıca hayvansal üretim kapasitelerinin artmasıyla birlikte, ekonomiyi olumsuz etkileyen ve hızlı bulaşan hastalıklara karşı da aşular geliştirilmekte ve bu aşuların performans etkisi de izlenmektedir (Shams, 2005; Lütticken ve ark., 2007).

Temel olarak aşular, konvansiyonel ve gelecek nesil aşular olmak üzere ikiye ayrılır. Geleneksel aşular olarak da bilinen konvansiyonel aşular içinde yer alan canlı ve inaktif aşular, güncel olarak kullanılan lisanslı veteriner aşularının büyük bir kısmını oluşturur. Canlı aşular attenüe edilmiş canlı mikroorganizmalar içerirken inaktif aşularda ölü patojenler kullanılır. Bakteri toksinlerine karşı kullanılan toksoid aşular ve hastalıklara neden olan mikroorganizmalardaki sadece antijenik kısımları barındıran subunit aşular da konvansiyonel aşular kategorisi içinde bulunmaktadır (Arda ve Sareyyüpoğlu, 2004).

Bu kategorideki aşuların hastalıklara karşı korumada etkili olmalarının yanında değişen üretim süreçlerine de uygun olması oldukça önemlidir. Canlı aşuların toplu kullanımı (sprey, içme suyu aşılama gibi), sürü bağışıklığıyla birlikte bireysel bağışıklığın izlenmesini ve hastalık gerçekleştiğinde tüm bireylerin korunmasını sağlayacak şekilde aşılama programlarının düzenlenmesini zorunlu kılmaktadır. Diğer yandan canlı aşular içinde bulunan attenüe edilmiş mikroorganizmaların tekrar patojenik forma dönüşebilme potansiyelinin bulunması bu aşuların önemli dezavantajlarından biridir. Sahada yapılan teşhis işlemlerinde hayvanlarda saptanan mikroorganizmanın aşı suşu ya da saha suşu olup olmadığının ayırt edilmesinde de zorluklar yaşanmaktadır (Hanley, 2011; Lupini ve ark., 2011).

Canlı aşulardaki güvenlik sorunu, inaktif aşuların güvenli olmalarına rağmen koruyuculuklarının daha düşük ve koruyuculuklarının daha kısa süreli olması, toksoid

ve subunit aşuların da benzer şekilde daha düşük immün yanıt sağlaması gibi nedenler, daha etkili ve güvenli aşular geliştirilmesi ihtiyacını ortaya çıkarmıştır. Biyoteknoloji, immünoloji, moleküler biyoloji ve genetik gibi alanlarla birlikte aşı teknolojilerindeki gelişmeler sonucunda yeni nesil aşular olarak da bilinen biyoteknolojik aşular geliştirilmiş, son yıllarda bu tipteki aşular üzerinde çalışmalar yoğunlaşmıştır (Büyüktanır, 2010).

Gelecek nesil aşular, hastalık etkeni olan mikroorganizmaların genomlarının tamamını değil, yalnızca immüniteyi uyuracak parçalarını içerirler. Böylelikle canlı aşulardaki gibi enfeksiyon oluşturma riski bulunmaz, bu sebeple onlara göre daha güvenilir oldukları söylenebilir. Avantajlarının yanında geliştirme aşamalarının daha kompleks ve pahalı olması gibi dezavantajları da bulunan bu tipteki aşulara rekombinant subunit aşular, DNA aşular, marker aşular ve vektör aşular örnek gösterilebilir (Bouazzaoui ve ark., 2021; Jafari ve ark., 2022).

Rekombinant DNA teknolojisinin kullanıldığı aşularda patojen mikroorganizmadan seçilen genetik materyal bakteri, virus ya da maya gibi başka bir taşıyıcıya aktarılır. Vektör aşularda ise bakteri, virus, maya, plasmid ya da bitki gibi vektörler başka patojenlere ait antijenleri kodlayan genleri taşırlar. Rekombinant subunit aşuların aksine bu aşuların geliştirme ve üretim aşamalarında antijenlerin izole edilip saflaştırılmasına gerek yoktur ve vektörün kendisi aşı olarak kullanılabilir (Tizard, 2020).

VEKTÖR AŞILAR

Son yıllarda hem insan hem de hayvan sağlığına yönelik sıklıkla çalışılan aşı tiplerinden biri de vektör aşulardır. Bu yöntem ile patojenlere ait antijenlerin ekspresyonu vektörler aracılığıyla gerçekleştirilir ve böylelikle bağışıklık sistemi uyarılır (Yamanouchi ve ark., 1998). Canlı aşulara göre daha güvenli olmaları, üretim ile geliştirme sürecinin daha kısa sürmesi, hem hücresel hem de humoral yanıt uyarmaları ve bu açıdan özellikle intraselüler patojenlere karşı güçlü bağışıklık sağlamaları gibi pek çok avantajları bulunan vektör aşuların hayvan sağlığı alanında önemi giderek artmaktadır. Bu alandaki aşularda vektör olarak genellikle poxvirus, adenovirus, herpesvirus gibi DNA virüsleri, daha nadir olarak *Salmonella*, *Lactobacillus*, *Mycobacterium bovis* gibi bakteriler ya da bazı maya türleri kullanılmaktadır (Tizard, 2020).

Viral vektörler arasında, geniş DNA parçalarının aktarılabilceği büyük bir genoma (130-230 kbp) sahip olan poxvirüsler, bu aile içinde ise fowlpox, canarypox ve vaccinia virus gibi türler ön plana çıkmaktadır (Moss, 2013). Bu vektörlerin humoral ve hücresel yanıt uyurabilmeleri, etkinliklerinin ve güvenliklerinin yüksek olması, adjuvan ihtiyacının bulunmaması, pek çok farklı şekilde uygulanabilmeleri gibi başka avantajları da bulunmaktadır (Rajasekaran ve ark., 2018).

KANATLI HAYVANLARDA KULLANILAN VEKTÖR AŞILAR

Veteriner aşular arasında diğer hayvanlarda olduğu gibi kanatlı hayvanlara yönelik aşularda da rekombinant aşı teknolojisi çalışmaları son yıllarda artış göstermektedir. Büyük ekonomik kayıplara neden olan ve aynı zamanda insan sağlığı için de riskler taşıyan avian influenza (AI) ile Newcastle hastalığına (ND) yönelik vektör aşular ve devam eden çalışmalar bulunmaktadır. Bunlarla birlikte oldukça bulaşıcı olan, verim kayıplarının yanı sıra ölümlere sebebiyet veren enfeksiyöz bursal hastalık (IBD), enfeksiyöz bronşitis (IB), enfeksiyöz laringotrakeitis (ILT), Marek hastalığı (MD) ve kanatlı çiçeği gibi hastalıkların önlenmesinde de vektör aşı uygulamaları ön plana çıkmaktadır. Bu kategoride üretilen aşuların büyük çoğunluğunun güvenli ve hastalıktan korunma açısından etkili oldukları yapılan çalışmalar ile ortaya konmuştur (Romanutti ve ark., 2020; Hein ve ark., 2021).

Bu tip aşuların en önemli dezavantajı ise vektöre karşı maternal antikor bulunması durumunda, bu antikorların oluşacak immün yanıtı müdahale edip aşının etkinliğini azaltması olasıdır. Bu olay hakkında farklı çalışmalar bulunmakta ve bunlar da farklı düşünceler ortaya koymaktadır. Bu düşüncelerden biri olan epitop maskeleymesi, aşılardan sonra maternal antikorların antijen üzerindeki spesifik epitoplara bağlanıp antijeni örtmesi ve B lenfositler tarafından tanınmasını önlemesi ile gerçekleşmekte olup bu durum, aşuların etkinliğini azaltan sebeplerden biri olarak görülmektedir. Bir başka görüşe göre ise aşı antijeni maternal antikor ile B hücre reseptörüne bağlanırken, maternal antikor da antijenle birlikte B hücre aktivasyonunu engelleyen bir Fc reseptörü olan FcγRIIB'ye bağlanmaktadır. Bu çapraz bağlantının negatif bir sinyal oluşturması sonucu B hücre aktivasyonu ile antikor oluşumu engellenmektedir. Bu durumda aşılama zamanı, antikor titresi ve maternal antikor

miktarının etkili olduğu da göz önünde bulundurulmalıdır (Niewiesk, 2014).

Tavuk Çiçeği Virüsü (FPV)

Kanatlı hayvan hastalıklarına karşı vektör aşılarında, piyasaya sunulan ilk aşıda tavuk çiçeği virüsü olarak da bilinen fowlpox virus (FPV) vektör olarak kullanılmış ve bu virusa, Newcastle hastalığına neden olan virüsün hemagglutinin nöraminidaz (HN) ve füzyon (F) genleri eklenerek elde edilmiştir (Jackwood, 1999). Bu aşıyla birlikte, HN ve F genleri nötralize edici antikorların salınmasını uyarırken aynı anda hem Newcastle hastalığı virüsüne (NDV) hem de tavuk çiçeği virüsüne karşı immün yanıt gelişir. Tavuk çiçeği virüsünün deride, Newcastle hastalığı virüsünün ise üst solunum yollarında çoğalması sebebiyle solunum sisteminde bir hastalık oluşması riski yoktur ve bu durum, bu aşılardan en önemli avantajlarından biridir (Tizard, 2020).

Genel olarak rekombinant FPV aşılarında zarflı virüslere karşı geliştirilen aşılardan, zarfsız virüsler için geliştirilen aşılarından daha başarılı olduğu, bu durumun sebebinin de humoral immüniteyi uyarma şekillerinde görülen farklılıklar olduğu saptanmıştır. Yine de aşılardan başarıya ulaşmasında asıl olarak antijen seçimi ile hastalığın patogenezi önem taşımaktadır (Skinner ve ark., 2005).

Dünyada pek çok ülkede lisanslı olarak kullanılan avian influenzaya yönelik FPV vektörlü bir aşıda, tavuk çiçeği virüsüne avian influenza virüsünün (AIV) H5 alt tipine ait hemagglutinin (HA) geni eklenmiştir. Avian influenza ya da tavuk çiçeğine karşı maternal antikorların varlığının aşının etkinliğini azaltmamasının yanında, bir günlük hayvanlara uygulanan tek doz aşı erken koruma sağlamakta, adjuvana bağlı kalıntı problemi de oluşturmamaktadır. Diğer yandan, yapılan çalışmalar FPV'ye karşı aktif bağışıklık geliştirmiş olan hayvanlarda aşının etkinliğinin düştüğünü göstermiştir, bu nedenle aşının kanatlı çiçeği hastalığını geçirmiş ya da daha önceden bu hastalığa karşı aşılanmış hayvanlarda kullanımı uygun bulunmamaktadır (Bublott ve ark., 2006).

Günümüzde kullanımı yaygın olsa da ILT'ye yönelik canlı aşılardan, aşısız hayvanlara virus saçılımına, virülans artışına neden olmak gibi istenmeyen durumlara yol açma olasılığı bulunduğundan bu aşılardan başka bir seçenek olarak rekombinant aşılar yönelmiş ve bunun için FPV'nin vektör olarak kullanıldığı aşılar

üzerinde de çalışılmıştır. Bunun için tavuk çiçeği virüsünün, enfeksiyöz laringotrakeitis virüsünden (ILTV) alınan ve herpesvirus kaynaklı hastalıklara karşı bağışıklıkta önemli bir rol oynayan glikoprotein B'yi eksprese etmesi sağlanmıştır. Denemelerin sonucunda SPF tavuklarda ve ticari sürülerde yüksek bir koruma sağlanırken mortalite engellenmiş, konvansiyonel aşılarıdaki olumsuz yanlar da önlenmiştir (Tong ve ark., 2001).

Hindi Herpesvirüsü (HVT)

Kanatlı hayvan hastalıklarına yönelik geliştirilen rekombinant aşılarında vektör olarak sıklıkla kullanılan bir başka virus ise Marek hastalığı virüsü serotip 3 (MDV-3) olarak da bilinen hindi herpesvirüsüdür (HVT). Şimdiye kadar NDV, AIV, MDV ve ILTV'ye ait genler bu virüsün genomuna aktarılarak vektörler oluşturulmuştur (Jackwood, 1999). Bu tipteki aşılardan, tek bir aşılama ile yaşam boyu Marek hastalığına karşı koruma sağlanması ve konakları arasında sadece kanatlı hayvanlar bulunması sebebiyle oldukça güvenli sayılmaları gibi avantajları bulunmaktadır (Sonoda ve ark., 2000).

Enfeksiyöz laringotrakeitis virüsüne karşı geliştirilen aşılarında, bu virusa ait glikoprotein D, glikoprotein I veya glikoprotein B genlerinin HVT'ye aktarılması tercih edilmiş, yapılan çalışmalar sonucunda bu aşılardan uygulandığı hem SPF tavukların hem de ticari sürülerin büyük bir kısmının, ILTV ile karşılaşması durumunda semptom göstermedikleri gözlenmiştir (Esaki ve ark., 2013). Bu aşılar, in ovo uygulama yapılabilmesi, hastalık oluşturmada immün sistemi uyarabilmeleri, diğer aşılarla güvenli bir alternatif olmaları sebebiyle son yıllarda özellikle broiler, yumurtacı ve damızlık işletmelerde sıklıkla tercih edilmektedir. Aşılama sonrasında, vektör aşının replikasyonunun düşük olması durumunda yeterli ILTV ekspresyonunun olmaması ve düşük düzeyde bağışıklık/koruma şekillenebilir (Gimeno ve ark., 2011).

Konvansiyonel NDV aşılarına ilave olarak geliştirilmiş rekombinant aşılarından biri de NDV'nin hemagglutinin nöraminidaz ve füzyon genini eksprese eden HVT ile elde edilen vektör aşılarıdır. Bu aşılardan uygulanmasından iki hafta kadar sonra NDV'ye maruz kaldıklarında aşının hayvanların tamamında koruma sağladığı tespit edilmiştir (Heckert ve ark., 1996). Yalnızca hindilerin kullanıldığı bir başka çalışmada ise NDV'nin sadece füzyon geni HVT'ye aktarılmış,

yapılan aşılama sonucunda hiçbir hayvanda semptomlara rastlanmamasının yanında virüsün saçılımı da azalmıştır (El Khantour ve ark., 2017).

HVT'nin vektör olarak kullanıldığı AIV'ye yönelik aşılarından birinde bakteriyel yapay kromozom teknolojisi kullanılmış ve HVT'nin bakteriyel yapay kromozom (BAC) klonunun H7N1 suşundan alınan hemagglutinin genini eksprese etmesi sağlanmıştır. Bu aşının H7N1 virüsüyle birlikte Marek hastalığına karşı da koruma sağlamakta olduğu yapılan denemeler sonucunda görülmüştür. Aşılı tavuklarda yalnızca HA proteinine karşı antikor oluşacağından ve yapılan çalışmada bu tavuklarda nükleoproteine (NP) yönelik antikora rastlanmamasından bu aşının aynı zamanda DIVA aşı olarak da kullanılma potansiyeline sahip olduğu anlaşılmaktadır (Li ve ark., 2011).

Enfeksiyöz bursal hastalığa yönelik aşılarla da HVT vektör olarak kullanılmış, bunun için geliştirilen ilk aşıda enfeksiyöz bursal hastalık virüsünün (IBDV) VP2 geni HVT'nin genomunda bulunan US7 lokusuna eklenmişti. Fakat bu aşı Marek hastalığına karşı yeterince koruma sağlamadığı için ticari olarak üretilmemiştir. Sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda Faragher 52/70, Delaware varyant E gibi farklı IBD suşlarına ait VP2 geni HVT'nin genomundaki farklı lokuslara eklenerek türlü aşılar geliştirilmiş, bunlardan bazıları lisans kazanarak üretilmeye ve satılmaya başlanmıştır. Yapılan çalışmalarda bu aşıların Marek hastalığıyla birlikte enfeksiyöz bursal hastalığa karşı korumada başarılı ve son derece güvenli olduğu ortaya konmuştur. Diğer yandan aşıların etkisinin uzun sürdüğü, yüksek maternal antikorların varlığından etkilenmediği ve hem humoral hem de hücrel bağışıklığı uyardığı görülmüştür. Canlı aşılarla vektör aşıların karşılaştırıldığı bir çalışmada ise hayvanların virusa maruz bırakılması durumunda, bursa fabricius histolojik olarak incelendiğinde vektör aşı verilen hayvanlarda daha az lezyon bulunduğu saptanmıştır (Bublot ve ark., 2007; Prandini ve ark., 2016; Hein ve ark., 2021).

HVT'nin vektör olarak kullanıldığı aşılarından bazıları ise enfeksiyöz bursal hastalığın yanında enfeksiyöz laringotrakeitis ya da Newcastle hastalığına da karşı koruma sağlayan kombine aşılar şeklinde hazırlanmıştır. Bu şekilde hazırlanan aşıların kullanıldığı bir çalışmada HVT vektörüne NDV'nin F geni ile IBDV'nin VP2 geni eklenen vektör aşılar broiler tavuklara in ovo, yumurtacı tavuklara deri altı uygulanmış ve sonrasında hayvanlar

farklı günlerde Marek hastalığı virüsü, Newcastle hastalığı virüsü ve enfeksiyöz bursal hastalık virüsüne maruz bırakılmıştır. Çalışmanın neticesinde, fazla doz verilen hayvanlar da dahil olmak üzere hiçbir hayvanda yan etkiye rastlanmamış olması aşının güvenli olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte aşının maternal antikor varlığından etkilenmediği ve üç virüse karşı da koruma sağladığı saptanmıştır (Van Hulten ve ark., 2021).

Benzer şekilde HVT vektörü ile birden fazla hastalığa karşı geliştirilen aşının denendiği başka bir çalışmada ise HVT'nin US2 bölgesine, ILTV'nin gD ve gI genleri ile NDV'nin F genini içeren bir plasmidin eklenmesiyle elde edilen bir vektör aşı kullanılmıştır. Bu aşı 18 günlük yumurtalar ile bir günlük civcivlere sırasıyla in ovo ve deri altı uygulandıktan sonra hayvanlar farklı zamanlarda ILTV, NDV ve MDV'ye maruz bırakılmıştır. Çalışmanın neticesinde hiçbir hayvanda yan etki ya da Marek hastalığında görülen lezyonlar saptanmamış olması aşının güvenliği olduğunu göstermiştir. Tek doz aşı uygulanan hayvanlarda her üç hastalığa karşı da bağışıklık geliştiği görülmüş olup maternal antikorların aşı etkinliğine olan etkisi çalışmada incelenmemiştir (Gergen ve ark., 2019).

Newcastle Hastalığı Virüsü (NDV)

Genomunun değiştirilmesinin veya klonlanabilmesinin kolay olması, yapısında başka virüslere ait genlerin stabil şekilde bulunabilmesi, humoral ve hücrel bağışıklığı uyarabilmesi gibi özelliklerinin bulunması NDV'yi viral bir vektör olarak ön plana çıkarmaktadır. İnek, domuz, kedi, köpek gibi pek çok hayvan türünde görülen hastalıklar için vektör olarak kullanılan NDV, tavuklarda avian influenza, enfeksiyöz bursal hastalık, enfeksiyöz bronşitis ve enfeksiyöz laringotrakeitis hastalıklarına, hindilerde ise avian metapneumovirus enfeksiyonuna karşı üretilen aşılarla vektör olarak kullanılmıştır (Hu ve ark., 2020).

Avian influenzaya yönelik aşılarla, yüksek patojeniteli avian influenza virüslerinin (HPAIV) H5 ve H7 alt tiplerine ait farklı suşlardan alınan hemagglutinin geni NDV'ye aktarılmıştır. Bunların SPF tavuklardaki uygulamalarında hayvanların hem HPAIV hem de NDV'ye karşı korunduğu tespit edilmiştir ancak saha şartlarında yüksek immünitelyi sağlamak için birden fazla aşılama yapılması da sıklıkla karşılaşılan bir durum olarak dikkati çekmiştir. Bu işlem sonraki nesilde maternal antikorların

yüksek olmasını sağlamayı amaçlasa da maternal antikorların varlığı AIV ve NDV'ye karşı zayıf antikor yanıtı gözlenmesine de neden olabilmektedir ve bunu engellemek için kimerik NDV vektör aşılı geliştirilmiştir (Choi, 2017). Bu aşılılar NDV'nin hemagglutinin nöraminidaz ve füzyon proteinlerinin ektodomainlerini, avian paramyxovirus serotip 2'ninkilerle değiştirilerek oluşturulmuştur ve yapılan çalışmalar bu aşılıların, NDV ile çapraz reaksiyona girmeden genç tavuklarda maternal antikorların yüksek derecede bulunduğu dönemde hastalığa karşı güvenli bir şekilde koruma sağladığını göstermektedir (Kim ve ark., 2017; Liu ve ark., 2018).

Kanatlı hayvanlar için özellikle ekonomik açıdan önem arz eden hastalıklardan bir diğeri olan enfeksiyöz bursal hastalığa yönelik de farklı türlerde aşılı geliştirilmiştir. Bu hastalık için uygulanan canlı attenüe aşılıların etkili olmalarının yanı sıra genç tavuklarda ciddi yan etkilere neden olabilmesi, aynı zamanda maternal antikor engelini aşamaması gibi sebeplerden ötürü başka alternatiflere yönelme ihtiyacı duyulmuştur. Aynı zamanda virulansı artmış yeni antijenik varyant ve suşların ortaya çıkmasında da canlı aşı kullanımının katkısı olduğu da düşünülmektedir. Bu nedenle, bir alternatif olarak geliştirilen vektör aşılılarda IBDV'den alınan VP2 geni, NDV'nin LaSota suşunun genomuna eklenmiş, yapılan denemeler sonucunda aşının genç hayvanlarda daha güvenli bir koruma sağladığı ve SPF tavukları da NDV ile IBDV enfeksiyonlarına karşı koruduğu saptanmıştır (Huang ve ark., 2004; Choi, 2017).

Özellikle solunum sistemi ile böbrekleri etkileyen türleri bulunan enfeksiyöz bronşitisin günümüzde kullanılan canlı aşılılarının, saha suşlarıyla rekombinasyonları sonucu yeni varyantların oluşması riskinin yanında canlı NDV aşılılarıyla çakışmaları ve etkinliklerinin azalması durumları bulunmaktadır. Bu nedenle geliştirilen vektör aşılıda NDV'nin LaSota suşuna IBV'nin Massachusetts suşunun S2 geni aktarılmış ve bu aşılıyla yapılan çalışmada aşının hastalığa karşı korumada etkili olduğu görülmüştür (Toro ve ark., 2014; Choi, 2017).

Solunum sisteminde hastalık oluşturan bir başka etken olan enfeksiyöz laringotrakeitis virüsüne yönelik canlı aşılılarda, hayvanlar arasındaki geçişlerde virulans kazanma ve latent enfeksiyonlara neden olma olasılıkları bulunmaktadır ve bu durum daha güvenli aşılı üzerinde çalışılması ihtiyacını doğurmuştur. Bu doğrultuda yapılan

çalışmada NDV'nin LaSota suşuna ILTV'nin immünite rol alan üç önemli yüzey glikoproteinleri olan gB, gC ve gD'nin genleri ayrı ayrı ve kombine şekillerde aktarılmıştır. Yapılan denemelerin neticesinde gB içeren aşı ile aşılıanan hayvanlarda hastalığın şiddetinin düşmediği ve virüslerin replikasyonuna bir etkisi olmadığı görülmüştür. Buna karşın rNDV gC ya da multivalan aşı ile aşılıanan hayvanlarda kısmi koruma ile virüs replikasyonunda düşüş ve rNDV gD ile aşılıamada ise tam bir koruma elde edildiği saptanmıştır. Bu nedenle gD ile oluşturulan vektör aşılıların kullanımının bu iki hastalığı karşı korunmada en etkili ve güvenli olduğu düşünülmektedir (Basavarajappa ve ark., 2014).

Avian Lökozis Sarkoma Virüsü (ALSV)

Bu gruptaki aşılılardan biri, *Retroviridae* ailesinden *Alpharetrovirus* cinsine ait bir tür olan avian lökozis sarkoma virüsüne (ALSV), Newcastle hastalığı virüsünün hemagglutinin nöraminidaz ve fosfoprotein (P) genleri aktararak elde edilmiştir. Bu aşının denendiği çalışmanın sonucunda, HN geni bulunan retrovirüsün verildiği tavuklarda düşük de olsa tespit edilecek düzeyde bir immün yanıt geliştiği ve bu hayvanların NDV ile karşılaştırılması sonucunda hastalıktan korundukları gözlenmiştir. Diğer yandan P geni içeren retrovirüsün verildiği hayvanlarda ise NDV ile karşılaşma sonucunda aşılıama yapılmayan ya da NDV geni içermeyen retrovirus verilmiş hayvanlara göre daha erken ve daha şiddetli enfeksiyon görülmüştür. Türü tahminler olsa da bu durumu araştırmacılar kesin bir şekilde açıklayamamışlardır (Morrison ve ark., 1990). Aynı türdeki bir virüsün kullanıldığı bir başka çalışmada, bu kez avian lökozis virüsüne avian influenza virüsünün H7N7 suşuna ait bir hemagglutinin geni aktarılmıştır. Bu genin seçilmesinin nedeni ise bu genin, virus adsorbsiyonu ve penetrasyonuna, böylelikle de nötralize edici antikorların stimülasyonuna aracılık eden bir glikoproteini kodluyor olmasıdır. Bu deneme sonucunda serumda hemagglutinasyon inhibisyon (HI) ve nötralize edici antikor seviyeleri inaktif influenza aşılılarının kullanımında görülen değerden çok daha düşük bulunmuş olsa da aşının AI H7N7'ye karşı koruma sağladığı görülmüştür (Hunt ve ark., 1988).

Diğer Viral Vektörler

Sıklıkla üzerinde çalışılan vektörler haricinde de henüz lisansı bulunmayan lakin bazı çalışmalara konu

olan viral vektörler de bulunmaktadır. Bunlardan biri *Rhabdoviridae* ailesine ait bir tür olan veziküler stomatit virüsüdür (VSV). Bu virüs, kanatlı hayvanlara olduğu kadar insanlarda da sağlık açısından risk oluşturan avian influenza virüsünün H5 ve H7 alt tiplerine yönelik aşılar da vektör olarak kullanılmış, bu virüsten silinen G geni yerine H5 suşlarından hemagglutinin, H7 suşlarından ise hemagglutinin ve nükleoprotein genleri yerleştirilmiştir. Yapılan denemelerde uygulanan tek bir doz aşı ile H5N1'e karşı tam bir koruma sağlanmasının yanında virüs saçılımı da önlenmiştir. Diğer çalışmada ise H7N1'e yönelik ilk aşılardan üç hafta sonra bir booster aşı daha yapılmış ve bunun sonucunda hayvanlar H7N1 ile karşılaştıklarında hastalığa dair hiçbir semptom göstermemişlerdir. Bununla beraber virüsün saçılmasında da aşısız hayvanlara göre azalma gözlenmiştir. Her iki aşı da serolojik incelemelerde hasta ile enfekte hayvanların ayırımında kullanılabildiği için DIVA aşı olma özelliğini de taşımaktadır (Kalhorova ve ark., 2009; Halbherr ve ark., 2013).

Hem insan hem de hayvanlarda görülen farklı hastalıklardan korunmada vektör aşılar da kullanıldıktan ve başarılı sonuçlar elde edildikten sonra enfeksiyöz bursal hastalık virüsünün vektör olarak potansiyeli üzerinde durulmaya başlanmıştır. Bunun için NDV'nin hemagglutinin nöraminidaz proteininin nötralize edici epitoplarını kodlayan bir sekans IBDV vektörünün genomundaki belli bölgelere eklenmiştir. Aşılama sonucunda hayvanlarda IBDV'ye karşı %70-80, NDV'ye karşı ise %50-60 koruma sağlanmıştır (Li ve ark., 2014).

Bakteriyel Vektörler

Bir vektör olarak kullanıldıklarında, kolay üretilebilmeleri, oral yolla verilebilmeleri ve hücrel immün yanıtla birlikte humoral yanıtı uyarabilmeleri gibi avantajları bulunan *Salmonella* cinsi bakteriler hem insan hem de hayvan sağlığına yönelik aşılar da kullanılabilmektedir. Bu konuda yapılan önemli çalışmalardan biri de avian influenzaya yönelik geliştirilen aşılar üzerinedir. Bu çalışmalardan birinde attenüe edilmiş *Salmonella* Enteritidis'in genomu AIV'nin M2e protein epitoplarını eksprese edecek şekilde değiştirilmiştir. Bu aşının verildiği tavuklar LPAI H7N2 ve HPAI H5N1'le karşılaştıklarında morbiditede ve semptomların görülme süresinde düşüş saptanmış olsa da HPAI'nın neden olduğu mortalitede bir değişim olmamıştır. Bu sebeple bu aşının daha çok

düşük patojeniteli avian influenzaya yönelik bir aşı adayı olabileceği düşünülmektedir (Hargis ve ark., 2008).

Campylobacter bakterilerine bağlı hastalıklar bütün dünyada özellikle insan sağlığını tehdit eden bir unsur olarak görülmekte ve bu hastalıkların önüne geçmek adına tavuklardaki *Campylobacter* enfeksiyonları engellenmeye çalışılmaktadır. Diğer kontrol önlemleriyle birlikte aşılamının da hastalıkların önlenmesindeki katkısı etkisi büyüktür, bu sebeple bu bakterilere yönelik aşı geliştirmek için uzun yıllar boyunca türlü metotlar denenmiştir ancak kesin koruma sağlayan ticari bir aşı henüz geliştirilememiştir.

Son zamanlarda attenüe edilmiş *Salmonella* suşları vektör aşı çalışmalarında sıklıkla kullanılmış olsa da bu çalışmalar arasında tutarsızlıklar bulunmaktadır. Yapılan denemelerin çoğunda *Salmonella* Typhimurium'un farklı suşları, daha az olarak *Salmonella* Enteritidis ve *C. jejuni*'nin özellikle CjaA antijeni olmak üzere, CjaC, CjaD gibi çeşitli antijenleri kullanılmıştır. Her ne kadar çalışmaların sonuçları arasında farklılıklar bulunsa da bunlar arasında başarılı aşı adayları da bulunmaktadır (Wyszyńska ve ark., 2004; Layton ve ark., 2011; Kashoma ve ark., 2019).

SONUÇ

Aşılar, hastalıklara karşı korunmada iyi biyogüvenlik uygulamaları ile işletmelerde alınacak diğer önlemlerin yanında önemli bir yere sahiptir. Bu nedenle gelişen teknolojiyle birlikte bu alanda yapılan çalışmalar da giderek artmakta, dünyanın çeşitli bölgelerinde hayvanları olduğu kadar insanları da tehdit eden hastalık etkenlerine karşı farklı koruma yöntemleri aranmaktadır.

Hayvan sağlığı konusunda konvansiyonel aşıların kullanımı son derece yaygın olsa da son dönemde gelişen teknolojilerin ve bilginin doğrultusunda geliştirilen çeşitli hayvan türlerine yönelik vektör aşıların sayısı ve kullanımı her geçen gün artmaktadır.

Hem ülkemizde hem de dünya genelinde hâlâ sıklıkla görülen, zoonoz olanların toplum sağlığını tehdit etme riski bulunan ve ekonomik kayıplara da sebep olabilen kanatlı hayvan hastalıklarıyla mücadelede aşılar en önemli unsurlardan biridir. Günümüzde lisanslı aşıların birçoğu canlı attenüe ya da inaktif aşılar olsa da rekombinant aşı teknolojisindeki gelişmelerle birlikte vektör aşılar da ön plana çıkmaya başlamıştır. Bu aşılar üzerindeki çalışmaların artmasıyla birlikte yakın

gelecekte daha fazla vektör aşının kanatlı işletmelerinde kullanılacağı ön görülebilir çünkü bu aşilar hastalıklara uzun dönemli koruma sağladıkları gibi üretim sürecinde kullanım kolaylığı ve otomasyona elverişli olması (in ovo) gibi avantajları vardır. Ayrıca vektör aşiların hücrel immün yanıtla humoral immün yanıtı birlikte uyarmaları, adjuvan ihtiyacının bulunmaması, tekrarlayan aşilamalara olan ihtiyacı azaltması, hasta hayvanları aşılı hayvanlardan ayırmada kullanılan DIVA aşısı özelliğini taşıyabilmeleri gibi olumlu yönleri de bulunmaktadır.

Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda özellikle avian influenza, Newcastle hastalığı, Marek hastalığı, enfeksiyöz laringotrakeitis, enfeksiyöz bursal hastalık, enfeksiyöz bronşitis gibi hastalıkların etkenlerine ait genlerin viral vektörlere aktarılmasıyla elde edilen aşiların büyük oranda başarıya ulaştığı ortaya konmaktadır. Aynı patojenin farklı genlerinin yine aynı vektöre aktarıldığı ya da aynı hastalık etkeninin genlerinin farklı vektörlerde eksprese edildiği çalışmalarda da sonuçların paralel olduğu görülmektedir.

KAYNAKÇA

- André, F. E. (2003). Vaccinology: past achievements, present roadblocks and future promises. *Vaccine*, 21, 593–595.
- Arda, M. & Sareyyüpoğlu, B. (2004). Aşilar; Hazırlama Teknikleri, Avantaj ve Dezavantajları. Ankara, Turkey: İnkansa Yayınları.
- Basavarajappa, M. K., Kumar, S., Khattar, S. K., Gebrelul, G. T., Paldurai, A. & Samal, S. K. (2014). A recombinant Newcastle disease virus (NDV) expressing infectiouslaryngotracheitis virus (ILTV) surface glycoprotein D protects against highly virulent ILTV and NDV challenges in chickens. *Vaccine*, 32, 3555-3563.
- Bouazzaoui, A., Abdellatif, A. A. H., Al-Allaf, F. A., Bogari, N. M., Al-Dehlawi, S. & Qari, S. H. (2021). Strategies for Vaccination: Conventional Vaccine Approaches Versus New-Generation Strategies in Combination with Adjuvants. *Pharmaceutics*, 13, 140.
- Bublot, M., Pritchard, N., Le Gros, F. X. & Goutebroze, S. (2007). Use of a vectored vaccine against infectious bursal disease of chickens in the face of high-titred maternally derived antibody. *J Comp Pathol*, 137, S81–S84.
- Bublot, M., Pritchard, N., Swayne, D. E., Selleck, P., Karaca, K., Suarez, D. L., Audonnet, J. C. & Mickle, T. R. (2006). Development and use of fowlpox vectored vaccines for avian influenza. *Ann N Y Acad Sci*, 1081,193-201.
- Büyüktanır, Ö. (2010). Günümüzde Biyoteknolojik Bakteriyel Aşilar. *Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg*, 5, 97-105.
- Choi, K. S. (2017). Newcastle disease virus vectored vaccines as bivalent or antigen delivery vaccines. *Clin Exp Vaccine Res*, 6, 72-82.
- El Khantour, A., Darkaoui, S., Tatár-Kis, T., Mató, T., Essalah-Bennani, A., Cazaban, C. & Palya, V. (2017). Immunity Elicited by a Turkey Herpesvirus-Vectored Newcastle Disease Vaccine in Turkey Against Challenge With a Recent Genotype IV Newcastle Disease Virus Field Strain. *Avian Dis*, 61, 378-386.
- Esaki, M., Noland, L., Eddins, T., Godoy, A., Saeki, S., Saitoh, S., Yasuda, A. & Dorsey, K. M. (2013). Safety and Efficacy of a Turkey Herpesvirus Vector Laryngotracheitis Vaccine for Chickens. *Avian Dis*, 57, 192-198.
- Gergen, L., Cook, S., Ledesma, B., Cress, W., Higuchi, D., Counts, D., Cruz-Coy, J., Crouch, C., Davis, P., Tarpey, I. & Morsey, M. (2019). A double recombinant herpes virus of turkeys for the protection of chickens against Newcastle, infectious laryngotracheitis and Marek's diseases. *Avian Pathol*, 48, 45–56.
- Gimeno, I. M., Cortes, A. L., Guy, J. S., Turpin, E. & Williams, C. (2011). Replication of recombinant herpesvirus of turkey expressing genes of infectious laryngotracheitis virus in specific pathogen free and broiler chickens following in ovo and subcutaneous vaccination. *Avian Pathol*, 40, 395-403.
- Halbherr, S. J., Brostoff, T., Tippenhauer, M., Locher, S., Berger Rentsch, M. & Zimmer, G. (2013). Vaccination with Recombinant RNA Replicon Particles Protects Chickens from H5N1 Highly Pathogenic Avian Influenza Virus. *PLoS One*, 8, e66059.
- Hanley, K. A. (2011). The double-edged sword: How evolution can make or break a live-attenuated virus vaccine. *Evolution (N Y)*, 4, 635–643.

- Hargis, B. M., Layton, S. L., Kapczynski, D. R., Cole, K., Cox, M. M., Ywon, Y. M., Bergham, L.R., Liljebjelke, K.A. & Bottje, W. J. (2008). Development and evaluation of a potential universal Salmonella-vectored avian influenza vaccine. *Poultry Science Association Annual Meeting*, Niagara Falls, Canada, 2008, 2-3.
- Heckert, R. A., Riva, J., Cook, S., Mcmillen, J. & Schwartz, R. D. (1996). Onset of protective immunity in chicks after vaccination with a recombinant herpesvirus of turkeys vaccine expressing Newcastle disease virus fusion and hemagglutinin-neuraminidase antigens. *Avian Dis*, 40, 770-777.
- Hein, R., Koopman, R., García, M., Armour, N., Dunn, J. R., Barbosa, T. & Martinez, A. (2021). Review of Poultry Recombinant Vector Vaccines. *Avian Dis*, 65, 438-452.
- Hu, Z., Ni, J., Cao, Y. & Liu, X. (2020). Newcastle Disease Virus as a Vaccine Vector for 20 Years: A Focus on Maternally Derived Antibody Interference. *Vaccines*, 8, 222.
- Huang, Z., Elankumaran, S., Yunus, A. S. & Samal, S. K. (2004). A recombinant Newcastle disease virus (NDV) expressing VP2 protein of infectious bursal disease virus (IBDV) protects against NDV and IBDV. *J Virol*, 78, 10054-10063.
- Hunt, L. A., Brown, D. W., Robinson, H. L., Naeve, C. W., & Webster, R. G. (1988). Retrovirus-expressed hemagglutinin protects against lethal influenza virus infections. *J Virol*, 62, 3014-3019.
- Jackwood, M. W. (1999). Current and Future Recombinant Viral Vaccines for Poultry. In, Dodds WJ, Schultz RD, Editors. *Veterinary Vaccines and Diagnostics*. Cilt 41. San Diego, ABD: Academic Press; 1999, pp. 518-519.
- Jafari, A., Danesh Pouya, F., Niknam, Z., Abdollahpour-Alitappeh, M., Rezaei-Tavirani, M. & Rasmi, Y. (2022). Current advances and challenges in COVID-19 vaccine development: from conventional vaccines to next-generation vaccine platforms. *Mol Biol Rep*, 49, 4943-4957.
- Kalhoroa, N. H., Veits, J., Rautenschlein, S. & Zimmer, G. (2009). A recombinant vesicular stomatitis virus replicon vaccine protects chickens from highly pathogenic avian influenza virus (H7N1). *Vaccine*, 27, 1174-1183.
- Kashoma, I. P., Srivastava, V. & Rajasheka, G. (2019). Advances in Vaccines for Controlling Campylobacter in Poultry. In, Venkitanarayanan K, Thakur S, Ricke SC. Editors. *Food Safety in Poultry Meat Production*. Cham, İsviçre: Springer Nature Switzerland; 2019, pp. 191-210.
- Kim, S. H., Paldurai, A. & Samal, S. K. (2017). A novel chimeric Newcastle disease virus vectored vaccine against highly pathogenic avian influenza virus. *Virology*, 503, 31-36.
- Layton, S. L., Morgan, M. J., Cole, K., Kwon, Y. M., Donoghue, D. J., Hargis, B. M. & Pumford, N. R. (2011). Evaluation of Salmonella-Vectored Campylobacter Peptide Epitopes for Reduction of Campylobacter jejuni in Broiler Chickens. *Clin Vaccine Immunol*, 18, 449-454.
- Li, K., Gao, L., Gao, H., Qi, X., Gao, Y., Qin, L., Wang, Y. & Wang, X. (2014). Recombinant infectious bursal disease virus expressing Newcastle disease virus (NDV) neutralizing epitope confers partial protection against virulent NDV challenge in chickens. *Antiviral Res*, 101, 1-11.
- Li, Y., Reddy, K., Reid, S. M., Cox, W. J., Brown, I. H., Britton, P., Nair, V. & Iqbal, M. (2011). Recombinant herpesvirus of turkeys as a vector-based vaccine against highly pathogenic H7N1 avian influenza and Marek's disease. *Vaccine*, 29, 8257-8266.
- Liu, J., Xue, L., Hu, S., Cheng, H., Deng, Y., Hu, Z., Wang, X. & Liu, X. (2018). Chimeric Newcastle disease virus-vectored vaccine protects chickens against H9N2 avian influenza virus in the presence of pre-existing NDV immunity. *Arch Virol*, 163, 3365-3371.
- Lupini, C., Cecchinato, M., Ricchizzi, E., Naylor, C. J. & Catelli, E. (2011). Turkey rhinotracheitis outbreak caused by the environmental spread of a vaccine derived avian metapneumovirus. *Avian Pathol*, 40, 525-530.
- Lütticken, D., Segers, R. P. & Visser, N. (2007). Veterinary vaccines for public health and prevention of viral and bacterial zoonotic diseases. *Rev Sci Tech*, 26, 165-177.
- Morrison, T., Hinshaw, V. S., Sheerar, M., Cooley, A. J., Brown, D., Mcquain, C. & McGinnes, L.

- (1990). Retroviral expressed hemagglutinin-neuraminidase protein protects chickens from Newcastle disease virus induced disease. *Microb Pathog*, 9, 387-396.
- Moss, B. (2013). Poxvirus DNA Replication. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 5, a010199.
- Niewiesk, S. (2014). Maternal antibodies: clinical significance, mechanism of interference with immune responses, and possible vaccination strategies. *Front Immunol*, 5, 446.
- Prandini, F., Simon, B., Jung, A., Pöppel, M., Lemiere, S. & Rautenschlein, S. (2016). Comparison of infectious bursal disease live vaccines and a HVT-IBD vector vaccine and their effects on the immune system of commercial layer pullets. *Avian Pathol*, 45, 114–125.
- Rajasekaran, R., Kirubaharan, J. J. & Vidhya, M. (2018). Recombinant Veterinary Vaccines. *Indian Farmer*, 5, 507-513.
- Romanutti, C., Keller, L. & Zanetti, F. A. (2020). Current status of virus-vectored vaccines against pathogens that affect poultry. *Vaccine*, 38, 6990–7001.
- Shams, H. (2005). Recent developments in veterinary vaccinology. *Vet J*, 170, 289–299.
- Skinner, M. A., Laidlaw, S. M. & Elda, I. (2005). Fowlpox virus as a recombinant vaccine vector for use in mammals and poultry. *Expert Rev Vaccines*, 4, 63-76.
- Sonoda, K., Sakaguchi, M., Okamura, H., Yokogawa, K., Tokunaga, E., Tokiyoshi, S., Kawaguchi, Y. & Hirai, K. (2000). Development of an effective polyvalent vaccine against both Marek's and Newcastle diseases based on recombinant Marek's disease virus type 1 in commercial chickens with maternal antibodies. *J Virol*, 74, 3217–3226.
- Tizard, I. R. (2020). *Vaccines for Veterinarians*. St. Louis, Missouri, ABD: Elsevier.
- Tong, G. Z., Zhang, S. J., Meng, S. S., Wang, L., Qiu, H. J., Wang, Y. F. & Wang, M. (2001). Protection of chickens from infectious laryngotracheitis with a recombinant fowlpox virus expressing glycoprotein B of infectious laryngotracheitis virus. *Avian Pathol*, 30, 143–148.
- Toro, H., Zhao, W., Breedlove, C., Zhang, Z., Van Santen, V. & Yu, Q. (2014). Infectious Bronchitis Virus S2 Expressed from Recombinant Virus Confers Broad Protection Against Challenge. *Avian Dis*, 58, 83-89.
- Van Hulten, M. C. W., Cruz-Coy, J., Gergen, L., Pouwels, H., Ten Dam, G. B., Verstegen, I., de Groof, A., Morsey, M. & Tarpey, I. (2021). Efficacy of a turkey herpesvirus double construct vaccine (HVT-ND-IBD) against challenge with different strains of Newcastle disease, infectious bursal disease and Marek's disease viruses. *Avian Pathol*, 50, 18–30.
- Wyszyńska, A., Raczko, A., Lis, M. & Jagusztyn-Krynicka, E. K. (2004). Oral immunization of chickens with avirulent Salmonella vaccine strain carrying C. jejuni 72Dz/92 cjaA gene elicits specific humoral immune response associated with protection against challenge with wild-type Campylobacter. *Vaccine*, 22, 1379-1389.
- Yamanouchi, K., Barrett, T. & Kai, C. (1998). New approaches to the development of virus vaccines for veterinary use. *Rev Sci Tech off Int Epiz*, 17, 641-653.