

Deney Hayvanlarında Aşı Uygulamaları

Doç. Dr. Emrah Şefik Abamor

Aşı nedir?

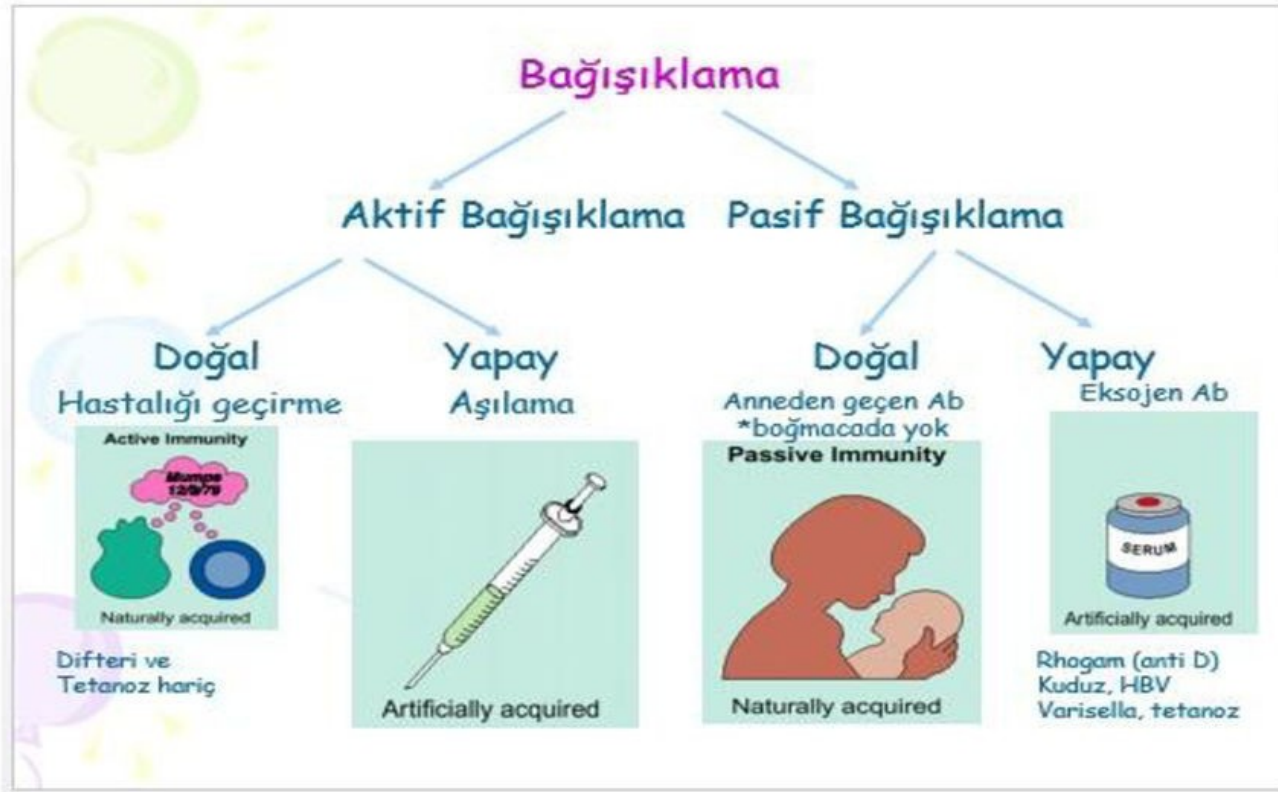
Verildikleri canlıda **immun sistemi** **uyararak** vücudu hastalıklara karşı **aktif bağışık** hale getiren maddelerdir.

Kişileri hastalıklardan ve onun kötü sonuçlarından koruyabilmek için sağlam ve risk altındaki kişilere (bebekler, hamile kadınlar, sağlık personeli vs) uygulanan biyolojik maddeleri içerir

İnsanda bağışıklık, doğal bağışıklık ve kazanılmış bağışıklık olmak üzere iki şekilde kazanılır.



BAĞIŞIKLIK TİPLERİ NELERDİR?



Birincil Bağışıklık

- Antijenler vücuda girdiği zaman T ve B lenfositler çoğalırlar. **Bunlardan bir kısmı antijenle savaştan kısa ömürlü hücrelere, bir kısmı da antijeni tanıyan hafıza (bellek) hücrelerine dönüşür.**
- Bu olaya **birincil bağışıklık** denir.

İkincil Bağışıklık

- Aynı hastalık etkeni ikinci kez vücuda girdiğinde, daha önceden hafıza hücreleri tarafından tanımlandığı için tepki çok kısa sürede ve güçlü gerçekleşir.
- Buna da ikincil bağışıklık denir.

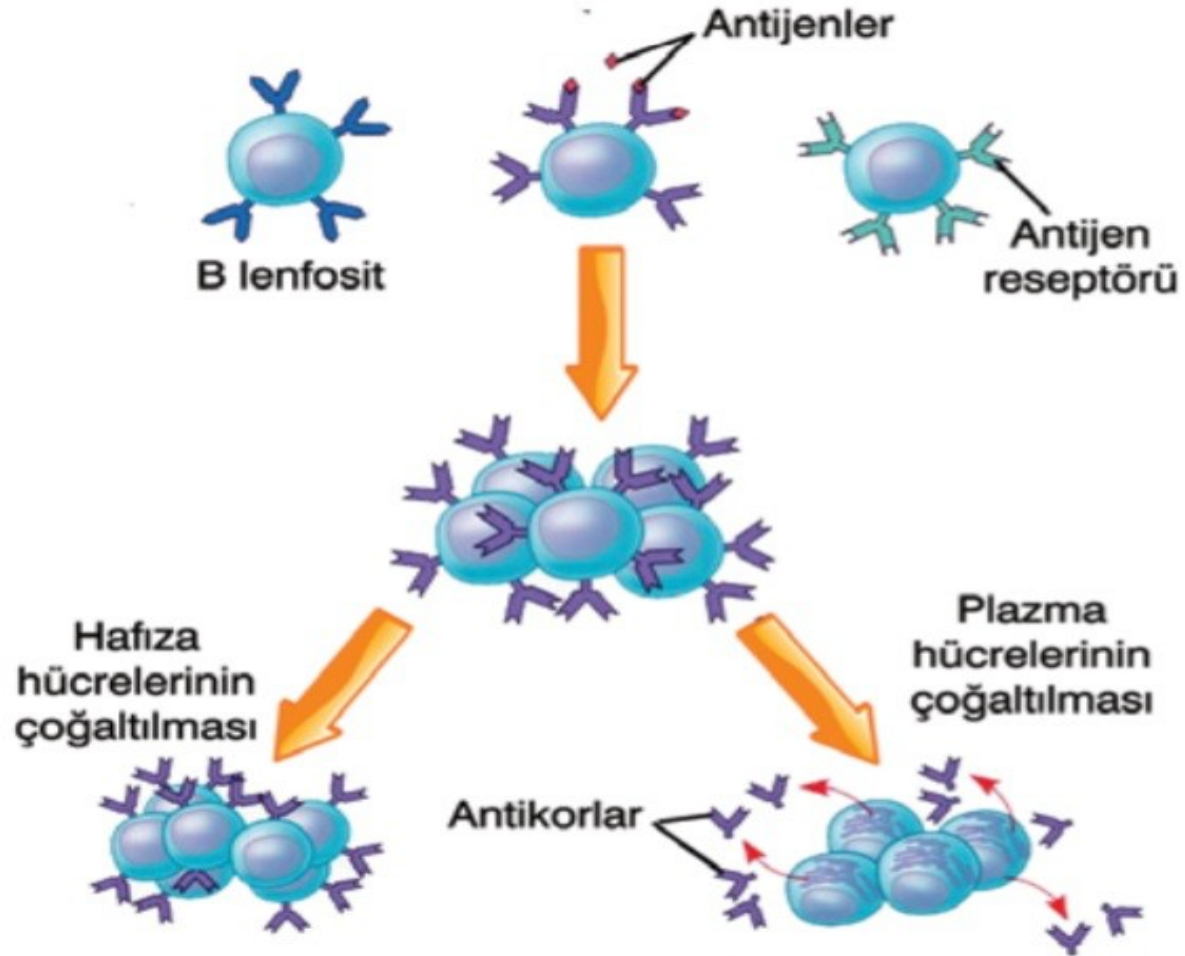


Humoral Bağışıklık

- **B lenfositleri ve antikorlarla yapılan bağışıklıktır.**

Antijenin vücuda girmesi sonucunda B lenfositlerin bir kısmı **hafıza hücrelerine** dönüşürken, bir kısmı da **plazma hücrelerine** dönüşerek antikor üretir.

- Üretildikten sonra kan ve lenfe verilen antikorlar, enfeksiyon bölgesine giderek antijenleri etkisiz hale getirir.

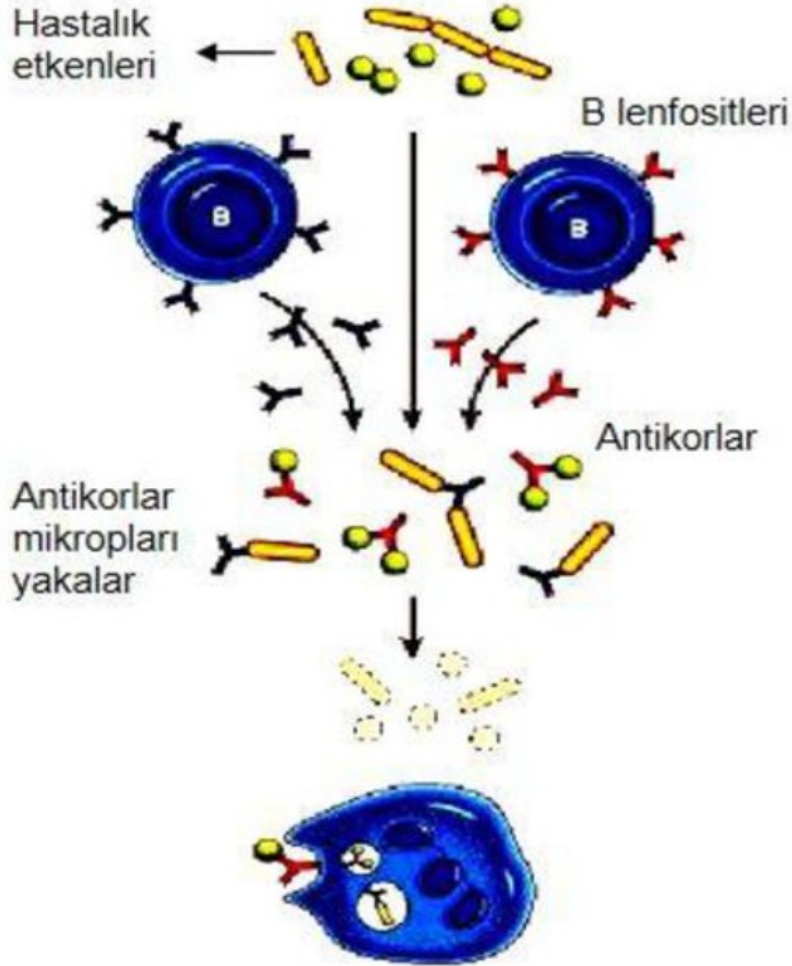


B lenfositler bağışıklığın sağlanmasında hafıza hücrelerini oluşturarak ve antikor üreterek etkili olur.

Hücresel Bağışıklık

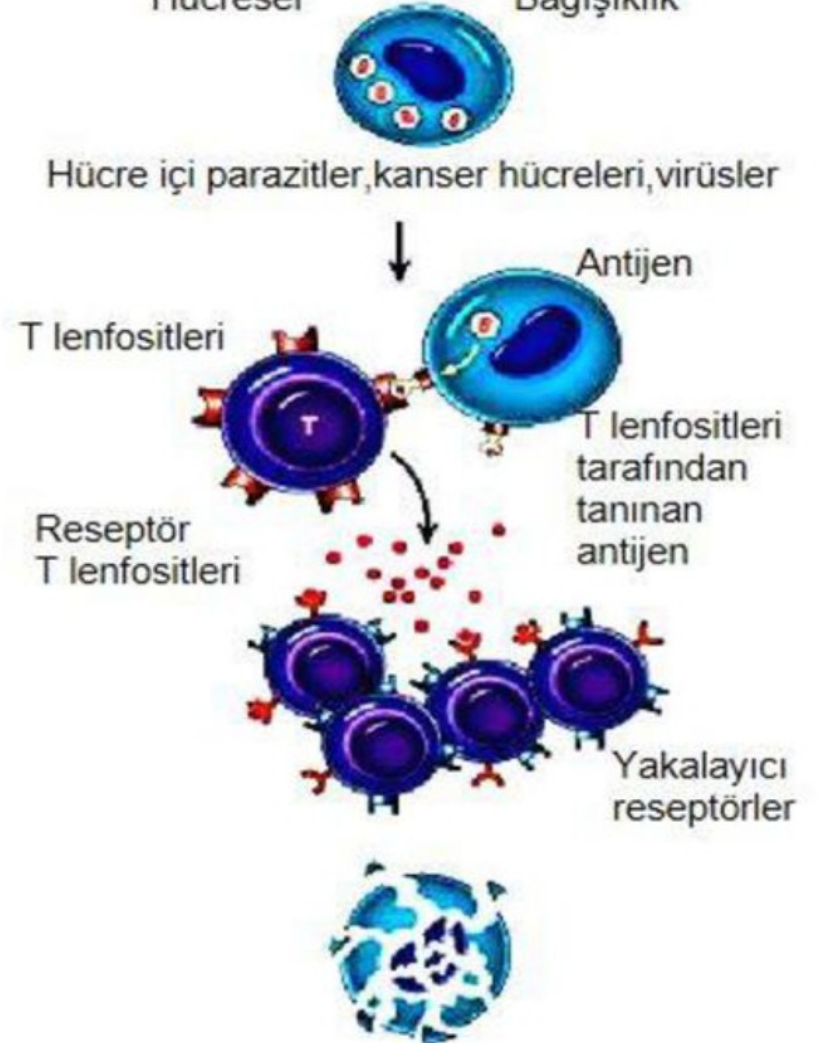
- Antijen vücuda girdiğinde, antijene özgü olmayan T lenfositleri hızla çoğalır antijeni yok etmeye çalışır. T lenfositler antijenle doğrudan temas ettiği için hücresel bağışıklık denir.
- Hücresel bağışıklık **kanserli hücreler, parazitler, mantarlar, doku nakli, bakteri ve virüsle enfekte olmuş hücreler üzerinde etkilidir.**

Humoral (sıvısal) Bağışıklık



Hastalık etkeni fagosit edilerek lizozom enzimleri ile sindirilerek yok edilir.

Hücresel Bağışıklık

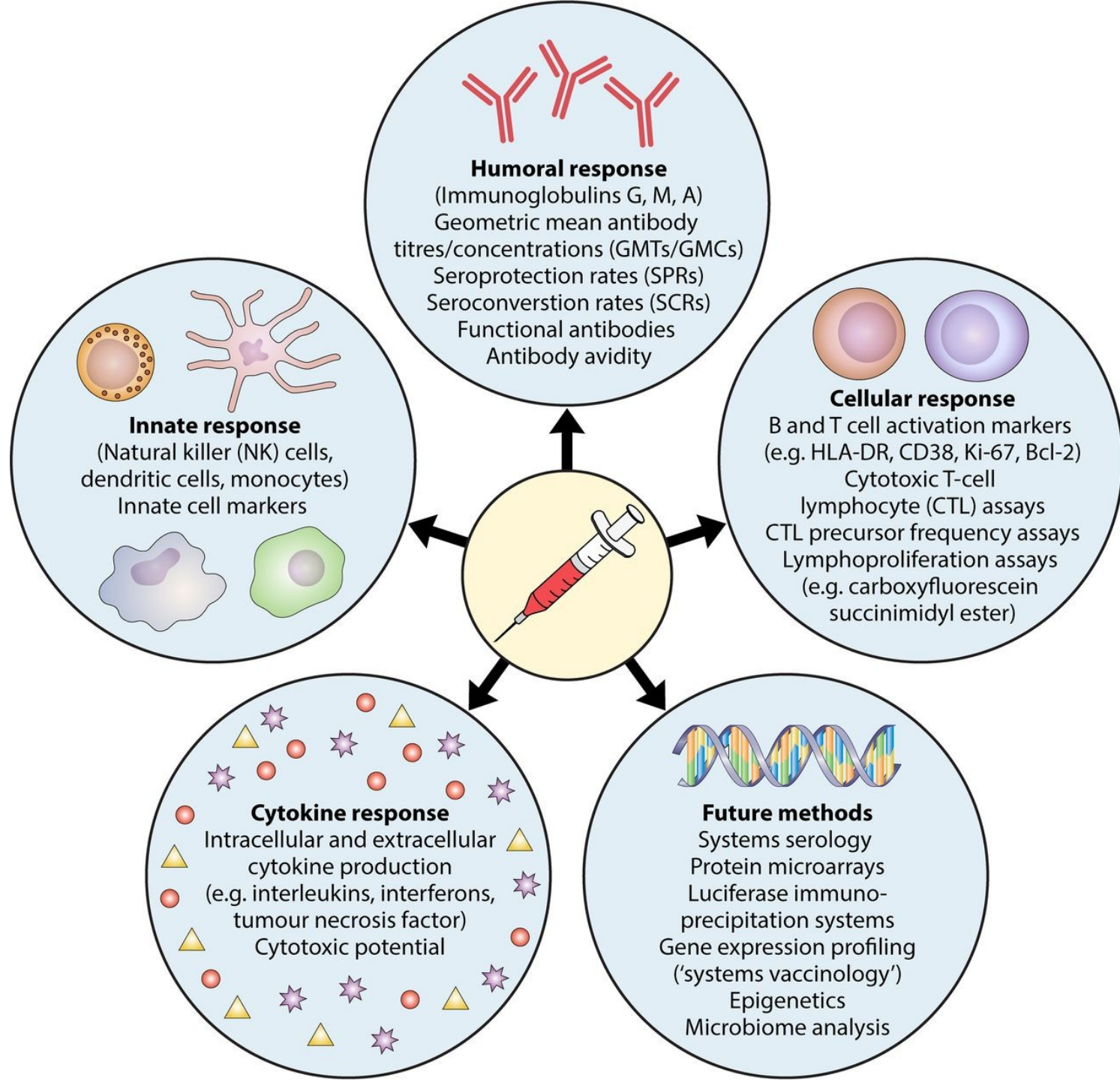


Hastalıklı hücreler parçalanarak etkisiz hale getirilir.

Prophylactic and therapeutic vaccines



- **Prophylactic vaccines** – the vaccine is used to prevent the effects of a future infection by any natural or wild pathogen. e.g. anti-rabies vaccine.
- **Therapeutic vaccines** – the vaccines are devised to harness the immune response to treat diseases ranging from cancer to multiple sclerosis. E.g. cancer vaccine.



AŞILAR:

- BCG (Verem)
- Polio (Çocuk Felci)
- Difteri
- Boğmaca
- Tetanoz
- Hib (Menenjit)
- KPA (Zatürre)
- Hepatit A
- Hepatit B
- KKK (Kızamık, Kızamıkçık, Kabakulak)
- Su Çiçeği
- Td (Erişkin tipi tetanoz difteri)

T.C. Sağlık Bakanlığı Çocukluk Dönemi Aşı Takvimi

Aşılar	Doğumda	1. ayın sonu	2. ayın sonu	4. ayın sonu	6. ayın sonu	12. ayın sonu	18. ayın sonu	24. ayın sonu	İlköğretim 1. sınıf	İlköğretim 8. sınıf
Hepatit B	I	II			III					
BCG (Verem)			I							
DaBT - İPA - Hib			I	II	III		R			
KPA			I	II	III	R				
KKK						I			R	
DaBT - İPA									R	
OPA					I		II			
Td										R
Hepatit A							I	II		
Suçiçeği						I				

DaBT-İPA-Hib: Difteri, Aselüler Boğmaca, Tetanoz, İnaktif Polio, Hemofilus Influenza Tip b Aşısı (Beşli Karma Aşı)

KPA: Konjuge Pnömonokok Aşısı

KKK: Kızamık, Kızamıkçık, Kabakulak Aşısı

DaBT-İPA: Difteri, Aselüler Boğmaca, Tetanoz, İnaktif Polio Aşısı (Dörtlü Karma Aşı)

OPA: Oral Polio Aşısı (Çocuk Felci Aşısı)

Td: Erişkin Tipi Difteri-Tetanoz Aşısı

R: Rapel (Pekiştirme)

Aşı takvimindeki tüm aşılar ücretsizdir.

BCG Aşısı

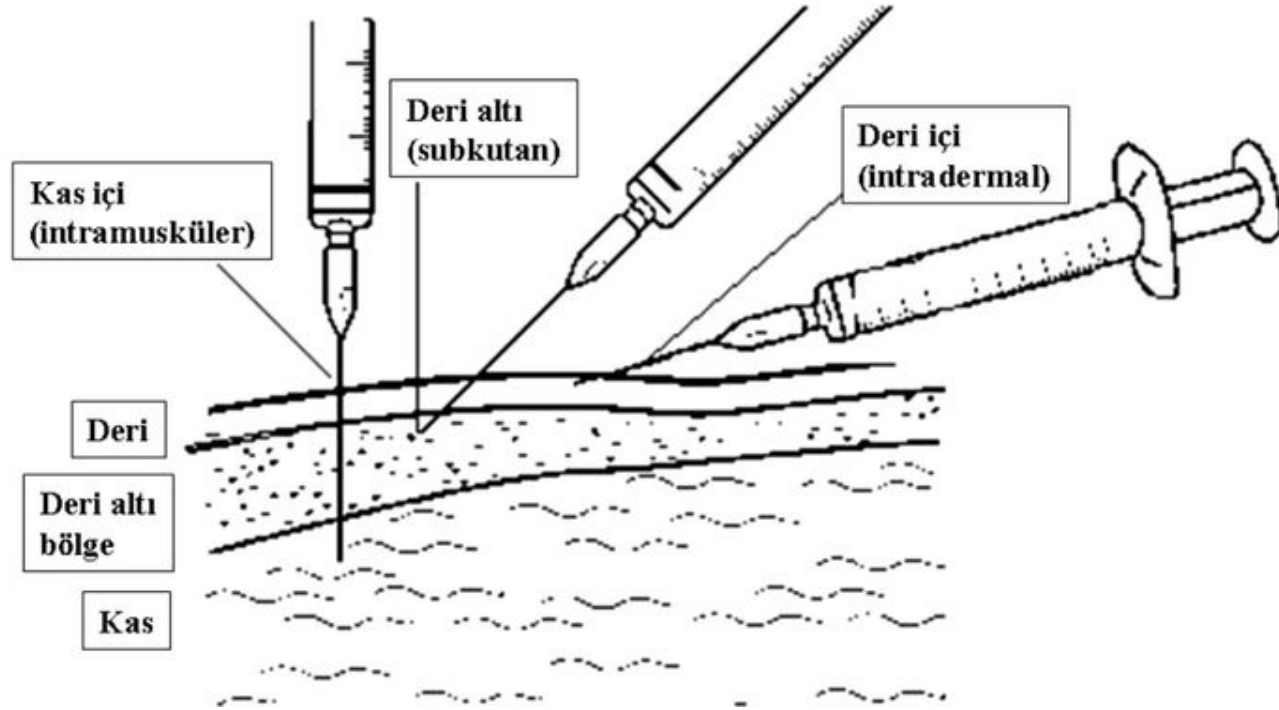
- BCG aşısı, vereme karşı bir miktar koruma sağlayan aktif bir aşıdır. BCG aşısı, verem bakterisine (*Mycobacterium tuberculosis*) maruz kalırsanız size mikrop bulaşmasını önlemez, ancak, yaşamınızı tehdit eden çok etkileyici bir hastalık yerine ılımlı ve belirli bir yerle sınırlı bir enfeksiyon kapmanızı olanaklı kılar.
- BCG aşısının, bağışıklık etkisini (korumayı) doğurması 6-12 hafta alabilir.

BCG Aşısı



Aşı Uygulama Yolları

- Intramuskuler
- Intradermal
- Subkutan
- Oral



Konvansiyonel Aşılar

- Halen en çok kullanılan aşılar

- Aşılar klasik yöntemlerle hazırlanır ve bağışıklık olağan mekanizmalarla sağlanır

1. Canlı Aşılar

2. İnaktif Aşılar

3. Toksoid Aşılar

4. Subunit Aşılar

Canlı (Attenüe) Aşılar

- Canlı aşılar hastalığa neden olan yaban virüsün ya da bakterinin laboratuvar koşullarında zayıflatılmasıyla üretilir.
- Bu şekilde elde edilen aşıdaki mikroorganizma çoğalma ve bağışıklık yanıtı oluşturma yeteneğine sahiptir.
- Hastalık yapıcı özellikleri ise zayıflatılmıştır.
- Canlı aşılar, bağışıklık sistemi zayıflamış ya da baskılanmış kişilere uygulanmamalıdır.
- Ülkemizde kullanılan canlı aşılar BCG, OPA, KKK ve suçiçeği aşılarıdır.

Canlı Aşılar

- “Canlı mikroorganizmalar içerir, öz. Viruslar”
- “**sitotoksik T lenfositlerinin** baskın olduğu **hücrel immun yanıtı** uyarırlar”
- “**intraseküler patojenlere** karşı en etkili savunma şeklidir”.
- “Canlı m.o.lar vücutta çoğalabildiklerinden immun yanıtı uzun süre uyarabilirler---bağışıklık uzun sürer!!!”
- “Aynı etkenler inaktive edilerek vücuda verilirse **yardımcı T lenfositleri** vasıtasıyla **humoral immun yanıtı** uyarırlar”.
- “Aşı hazırlanacak patojenlerin yaşama güçleri ve immunojeniteleri korunurken, virulensleri hastalık yapmayacak düzeye indirilir---**attenuasyon** (zayıflatma)”

İnaktif aşılar (ölü aşılar)

- Fiziksel veya kimyasal yöntemlerle öldürülmüş m.o.ları içeren aşılardır

- Hangi tip m.o. olursa olsun **ekzojen** antijen şeklinde algılanırlar.

Antijen sunan hücreler tarafından işlenip yardımcı T lenfositlerine sunulurlar ve **humoral immun yanıt** oluştururlar".

- Hücre dışı bakterilerin neden olduğu infeksiyonlarda etkilidirler

- Canlı aşılara kıyasla bağışıklık süresi kısadır

Toksoid Aşılar

- Toksinlerin inaktive edilmesi ile toksoid aşılar hazırlanır.
- Formaldehid gibi kimyasallar kullanılır
- Toksoid aşılar sadece humoral immun yanıt ı uyarır ve oluşan antikorlar bakteriler tarafından salgılanan toksinleri nötralize ederek koruma sağlarlar.

Subunit Aşılar

- İnfeksiyonların patogenezinde rol oynayan **proteinler, lipoproteinler, karbohidratlar** kullanılarak da aşılar hazırlanabilir---**subunit (alt ünite) aşıları"**
- Bu proteinlerin tek başlarına toksik etkileri olmadığı için, bunların inaktivasyonuna gerek yoktur
- Subunit aşıda kullanılacak molekülleri saf olarak elde etmek yeterlidir

Canlı ve inaktif aşıların farkları

- 1.Bağışıklık süresi yönünden karşılaştırıldıklarında canlı aşılar ölü aşılar göre **daha uzun süreli bağışıklık** verir.
- 2.Bağışıklık verme gücü yönünden, canlı aşılar ölülere göre genellikle **daha iyi bağışıklık** kazandırırılar.
3. **İnaktif aşıların** etkili bir bağışıklık kazandırması için genellikle **adjuvanlarla birlikte** verilmeleri gerekir.
- 4.Canlı aşıların immun yanıtı uyaran **dozları** genellikle **daha düşüktür**.

Canlı ve inaktif aşıların farkları

5.Canlı aşıların genellikle tek doz uygulaması yeterli iken, inaktif aşıların bağışıklığı uyarması için **belli aralıklarla iki doz** uygulanması gerekmektedir.

6.Canlı aşıların aşırı duyarlılık ve enjeksiyon yerinde lokal reaksiyon oluşturma riski ölü aşılarla göre daha yüksektir

7.Ölü aşıların aşısındaki patojenden dolayı enfeksiyon oluşturma riski yoktur. Ancak canlı aşılardaki **attenuated m.o.ların patojen hale geçme riski** her zaman bulunmaktadır.

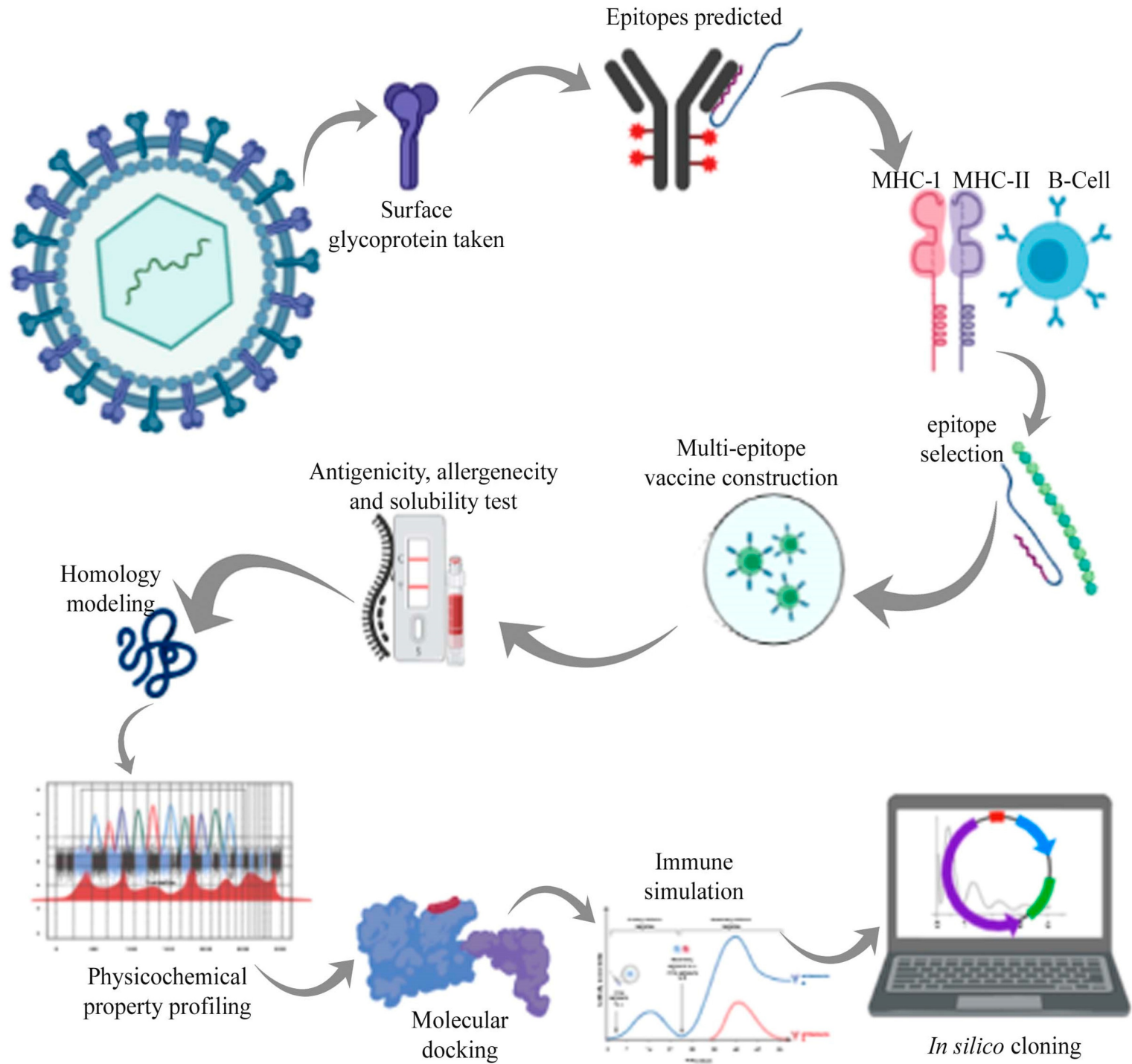


Biyoteknolojik Aşılar

- Anti-idiotipik antikor aşıları
- Peptid aşıları
- Rekombinant Protein Aşıları
- mRNA aşıları

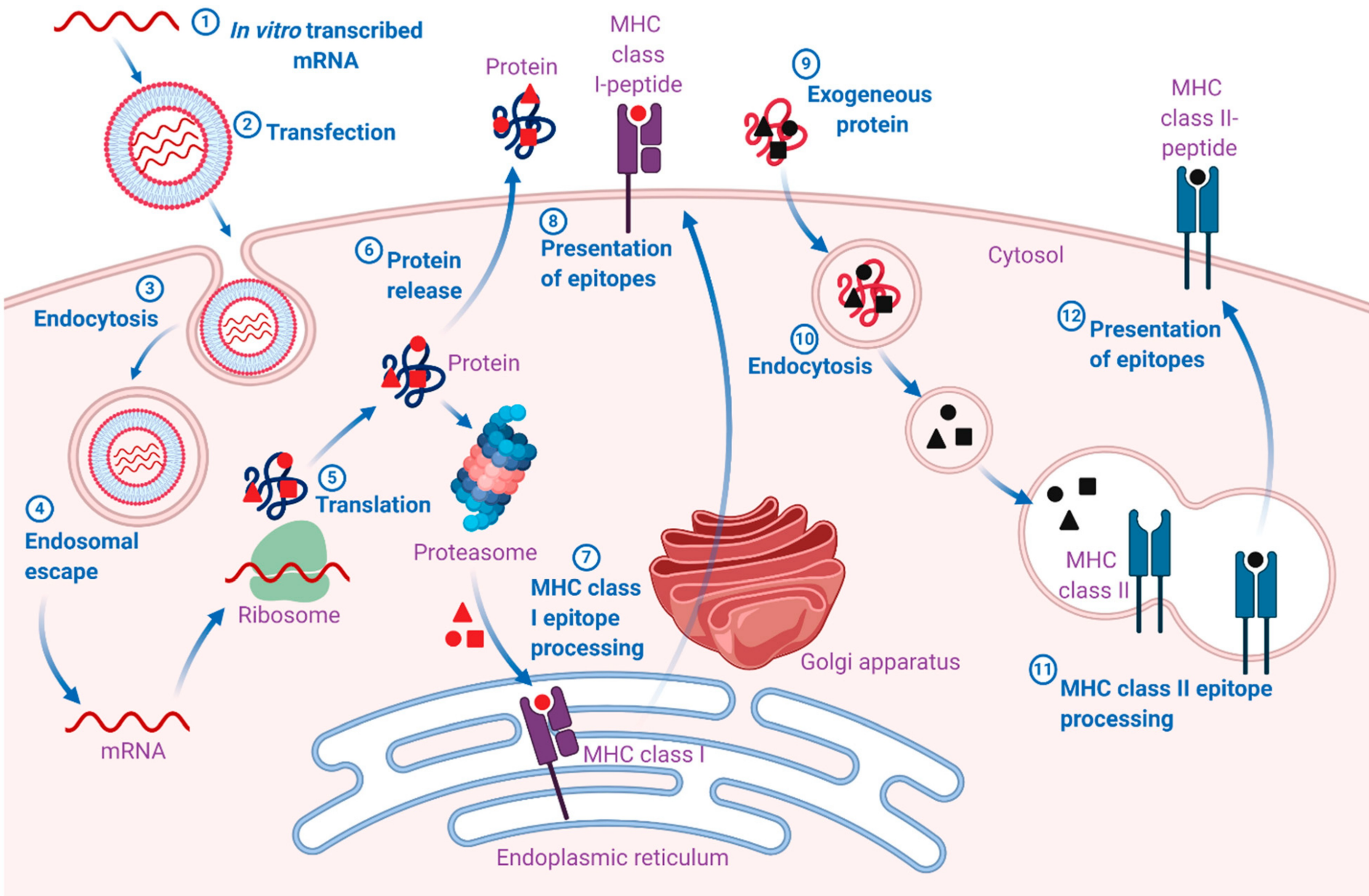
Sentetik peptit aşıların avantajları

- Bu aşılar da etkenin vücutta üremesi, yayılması, enfeksiyon oluşturmaları mümkün değildir.
- Yüksek dozda uygulanmaları bir sorun oluşturmaz.
- Muhafazaları kolaydır.



Sentetik peptit aşı dezavantajları

- Sentezlenecek antijenik determinantın iyi belirlenmesi gerekir.
- Etkin korunma için birden fazla sayıdaki antijenik determinant için hazırlanmış (multikompetent) aşı kullanımı gerekebilir.



Adjuvan

- Adjuvanlar antijenlerle birlikte kullanılan ve immün sistemi non-spesifik olarak harekete geçiren biyolojik ya da kimyasal bileşenlerdir.

Adjuvan

- Adjuvanların hücresel ve moleküler düzeyde farklı etki mekanizmaları vardır. Bunlar;
- antijenin yavaş salımı için depo etki,
- antijen ifade edici hücrelere (APCs) hedefleme,
- bu hücrelerin (APCs) **aktivasyonu**,
- **sitokinlerin** uyarılması, **antijen moleküllerinin** konformasyonel değişikliklere uğratılması veya
- moleküllerin net polar yüklerinin değiştirilmesi şeklinde olmaktadır.

İdeal bir Adjuvan nasıl olmalıdır?

- ideal bir adjuvan hücresel veya hümmoral ne tür bir korunma isteniyorsa istenilen immünitenin oluşmasını sağlamalı
- İmmün hafıza yani uzun süreli immünite oluşturmali
- Güvenli ve yan etkisi az olmalı (ruhsat öncesi 5000- 25000 vakada etkin ve güvenli olduğu gösterilmeli)
- Otoimmüniteyi uyarıcı etkisi olmamalı
- Mutajenik, karsinojenik, teratojenik olmamalı
- Biyolojik olarak parçalanabilir olmalı
- Ucuz ve raf ömrü uzun olmalıdır.

Adjuvanlar

Alüminyum tuzları (alum),

Saponinler

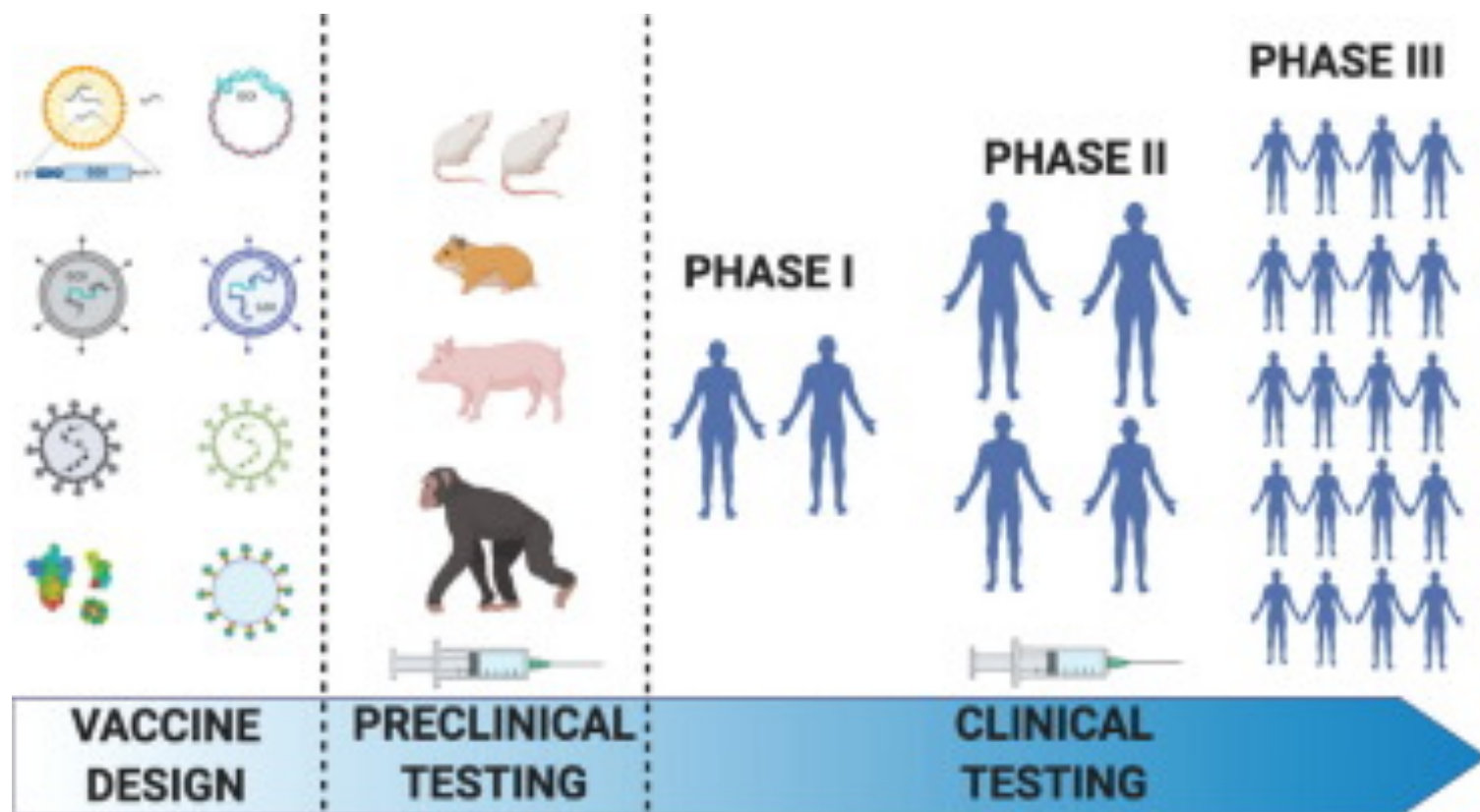
Sitokinler

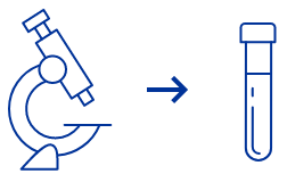
Yağ emisyonları

Bakteriyal türevleri

Karbohidratlar

Lipozomlar





small scale studies

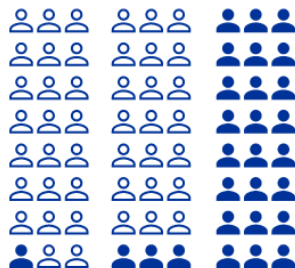
**Pharmaceutical
quality**



in vitro

in vivo

Non-clinical



I

II

III

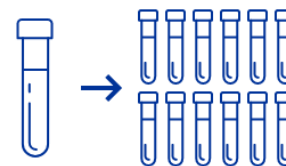
Clinical trials



EMA

EC

**Evaluation &
decision**



scale up production

**Commercial
manufacturing**



safety studies

**Safety
monitoring**

Karakterizasyon

Etkin madde ve bitmiş ürün analizleri için spesifikasyonlar tanımlanarak seri analiz testleri (pH, osmolarite, ekstrakte edilebilir hacim, adjuvan içeriği, potens, bağlanma testleri [antijen-adjuvan adsorbsiyonuna dair testler], sterilite, endotoksin/pirojenite testleri gibi) yapılmalı,



Proses ve ürünle ilgili safsızlıklar tanımlanarak, safsızlık analizleri yapılmalıdır.

Potens

- Potens testleri, bir aşının biyolojik aktivitesini ölçer ancak aşının insanlardaki koruma mekanizmasını yansıtmayabilir. Potens ölçümü genellikle üretim sürecinin tutarlılığını doğrulamak için kullanılır.
- Aşılar için potens testi, aşının biyolojik aktivitesinin, biyoaktivitesi bilinen referans bir preparatla karşılaştırılarak ortaya konulmasıdır.
- Ayrıca koruyucu etkililik (*challenge*) çalışmaları da potens ölçümünde kullanılır. Aşı adayları için potens testleri yapılmalıdır.

Stabilite

- Stabilite, bir aşının belirlenen süre boyunca spesifikasyonlar içerisinde kaldığının göstergesidir. Gerekli olması durumunda, klinik araştırmada kullanılan aşının üretim sürecindeki ara ürünlerinin de stabilite testleri yapılmalıdır.

Stabilite

- Fiziksel, kimyasal ve biyolojik ürün karakterizasyonu stabilite değerlendirmesine dahil edilmelidir.
- Bazı durumlarda, normal depolama sıcaklığında elde edilen ön verileri desteklemek için hızlandırılmış stabilite verilerinin yanı sıra, bazı stres testleri (donma-çözme döngüsü, sıcaklık, pH stabilite, karıştırma, fotostabilite gibi) de kullanılabilir.



PRİMER
FARMAKODİNAMİK
ÇALIŞMALAR

İmmünojenisite çalışmaları

Aşı adaylarının farmakodinamik çalışmaları genelde immünojenisitenin değerlendirilmesi için yapılır. İmmünojenisite çalışmaları, klinik gelişim planını destekleyen kavram kanıt verisi elde edilmesini sağlar.

İmmünojenisite çalışmaları

Uygun hayvan modellerinden elde edilen immünojenisite verileri, ürünün immünolojik özelliklerinin belirlenmesine olanak sağlar.

Bununla birlikte klinik araştırmalarda değerlendirilecek dozların, doz şemalarının ve uygulama yollarının seçimine rehberlik eder.

İmmünojenisite çalışmaları

İmmünojenisite çalışmalarında kullanılacak hayvan türünün, ürüne immünojenisite yönünden duyarlı olması, **hastalık etkeni olan patojene duyarlı olması gerekmektedir.**

Seçilen hayvan türü ve modelinin uygunluğu ve seçilme sebebi gerekçelendirilmelidir.

İmmünojenisite çalışmaları

- İmmünojenisite çalışmaları, aşılanan hayvanlardaki immün yanıtı (ör. hüморal veya hücreseл immün yanıt) değerlendirmelidir.
- Oluşan immün yanıtа bağlı olarak bu tür çalışmaların, aşılanan hayvanlarda serokonversiyon oranlarını, antikor titrelerinin geometrik ortalamalarını ve hücreseл immünitenin değerlendirmesini içermesi beklenir.

İmmünojenisite çalışmaları

- Mümkün olan durumlarda koruyucu etkiyi oluşturan fonksiyonel immün yanıtı (**ör. nötralize edici antikorlar**) da içeren ilgili immün yanıtlar değerlendirilmelidir.

ELISA NEDİR?

- Numunelerde spesifik molekülleri (örn. Proteinler ve karbonhidratlar) tespit etmek (tahlil etmek) için kullanılan teknik.
- İmmünolojik teknik: antikorlar kullanır
- Nicel analiz yapar
- Çok hassastır
- Tıbbi ve bilimsel araştırmalarda yaygın olarak kullanılır.

- Tanım :

- Enzime bağlı immünosorban testi (ELISA), bir maddeyi tanımlamak için antikorlar ve renk değişimi kullanan biyokimyasal bir tekniktir.

- ELISA mevcut en hassas ve tekrarlanabilir teknolojilerden biridir. Bu testler hızlı, uygulanması basit ve kolayca otomatikleştirilmiştir.

- Prensip :

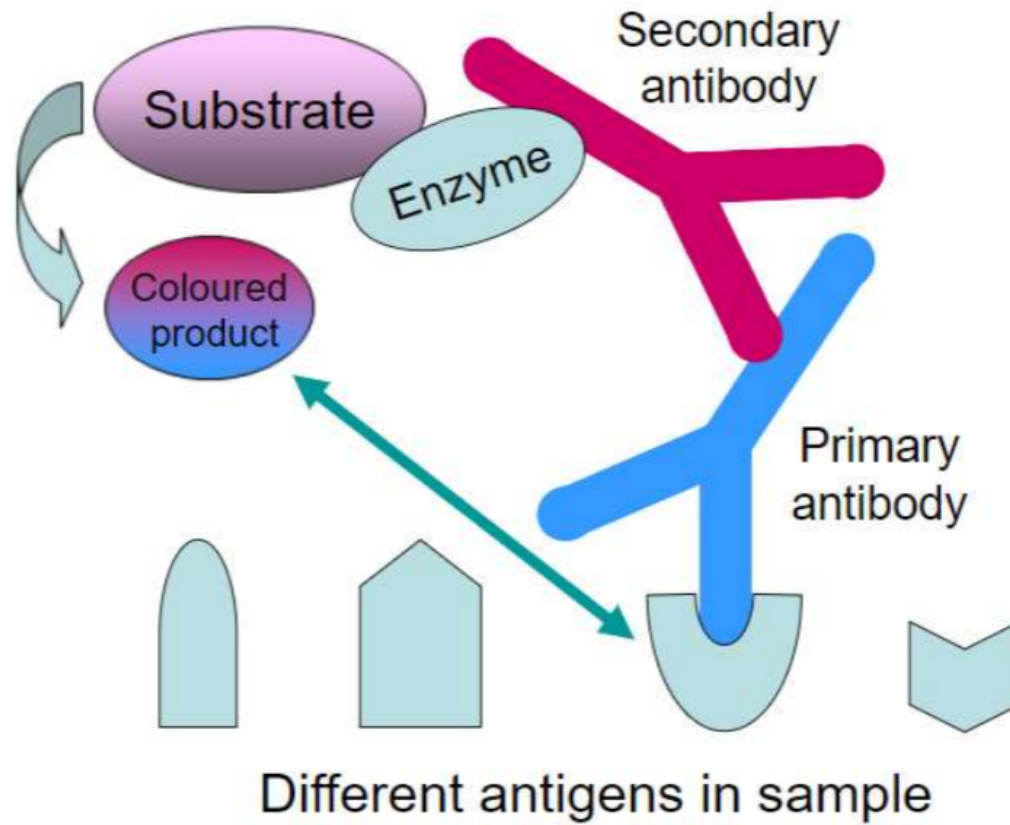
- ELISA, antikorların özgüllüğünü basit enzim tahlillerinin duyarlılığı ile birleştirir. (kolayca tahlil edilen bir enzime bağlı antikorlar veya antijenler kullanılarak).

ELISA, antijen veya antikor konsantrasyonunun ölçümü için yararlı bir yöntemdir

ELISA

Enzim Bağlantılı İmmünosorbent Testinin Temel Adımları

- 1. İlgili antijen, plastik yüzeye (sorbent) sabitlenir.
- 2. Antijen, spesifik antikor (immüno) tarafından tanınır.
- 3. Bu antikor, enzime bağlı (enzime bağlı) ikinci antikor (immüno) tarafından tanınır.
- 4. Substrat genellikle renkli olan ürün üretmek için enzimle reaksiyona girer.



The steps of "indirect" ELISA follows the mechanism below:-

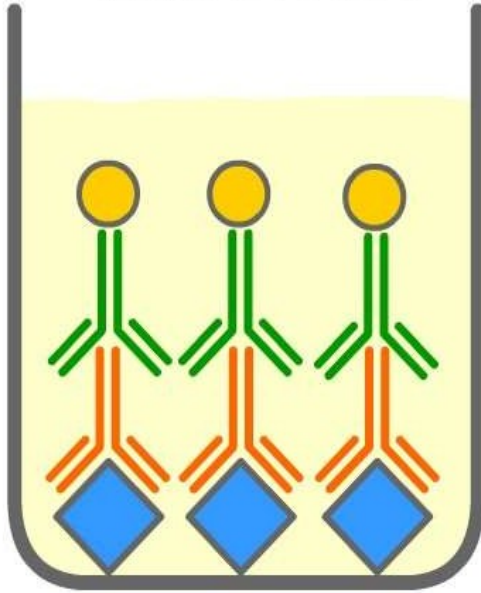
- Antigens are coated in the wells
- The primary antibody is added, which binds specifically to the test antigen coating the well.
- A secondary antibody is added, which will bind the primary antibody. This secondary antibody often has an enzyme attached to it, which has a negligible effect on the binding properties of the antibody.
- A substrate for this enzyme is then added
- The color change shows the secondary antibody has bound to primary antibody.
- The higher the concentration of the primary antibody present in the serum, the stronger the color change. Often, a spectrometer is used to give quantitative values for color strength.

Sandwich ELISA (Direct) :

Antigen-Capture (Direct) Format

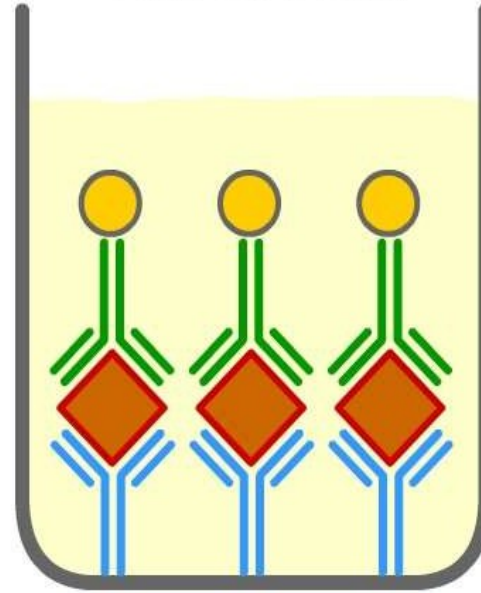
- In the antigen-capture format, the antigen in the sample is sandwiched between antibodies coated on the plate and an enzyme-labeled conjugate.
- The antibody conjugate can be either monoclonal or polyclonal.
- The addition of an enzyme substrate-chromogen reagent causes color to develop. This color is directly proportional to the amount of the target antigen present in the sample
- Plate is coated with a capture antibody. Sample is added, and any antigen present binds to capture antibody.
- Detecting antibody is added, and binds to antigen.
- Enzyme-linked secondary antibody is added, and binds to detecting antibody.
- Substrate is added, and is converted by enzyme to detectable form.

Indirect ELISA



These reporter antibodies bind to the bound autoantibodies from the sample, forming a complex consisting of immobilised antigen, autoantibody and labelled reporter antibody. The wells are again rinsed to remove any unbound antibodies.

Direct ELISA



The secondary antibody attaches to the bound protein from the sample, forming a complex consisting of immobilised antibody, protein and labelled secondary antibody.

Nötralizasyon Testi

- Vücuda giren infeksiyöz ajanlarına karşı oluşan ve bunların infektivitesini veya enfeksiyon yapma yeteneğini ortadan kaldıran antikorlar meydana gelir ki böyle olguya nötralizasyon adı verilir.
- Test sadece virüslara özgü olmayıp toksin ve enzimler için de uygulanabilir.



Antikorların Fonksiyonları

1-Direkt efektör fonksiyonları

tek başlarına yaptıkları, savunmaya yönelik somut sonuç doğuran olaylar

toksinlere, bakterilere ve viruslara bağlanarak, bunların konak hücrelere bağlanmasını engellemek

- ❖ Toksin Nötralizasyonu
- ❖ Virus Nötralizasyonu
- ❖ Bakteriyel Adezyon İnhibisyonu

2-İndirekt efektör fonksiyonları

Nötralize edilen etkenlerin vücuttan tamamen uzaklaştırılması gerekir; Fc reseptörü taşıyan immun sistem hücreleri !!!!!



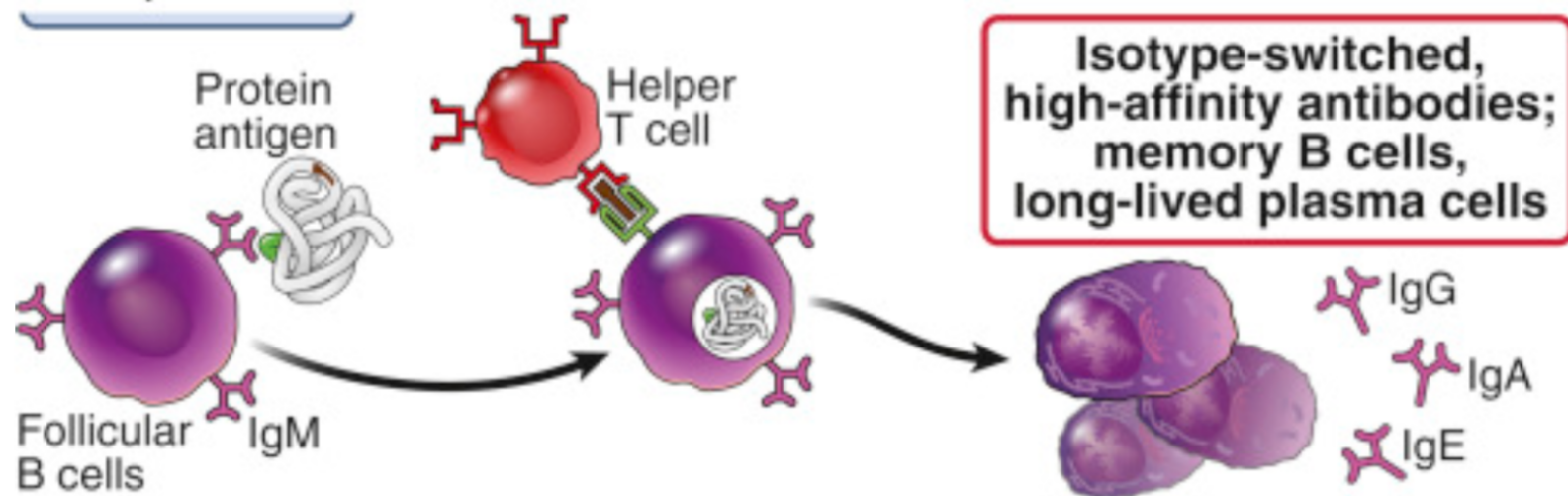
- ❖ Opsonizasyon
- ❖ Antikora bağımlı hücresel sitotoksite (ADCC)
- ❖ Lokal yangısal reaksiyon uyarımı
- ❖ Komplement aktivasyonu
- ❖ B hücre fonksiyonlarının düzenlenmesi



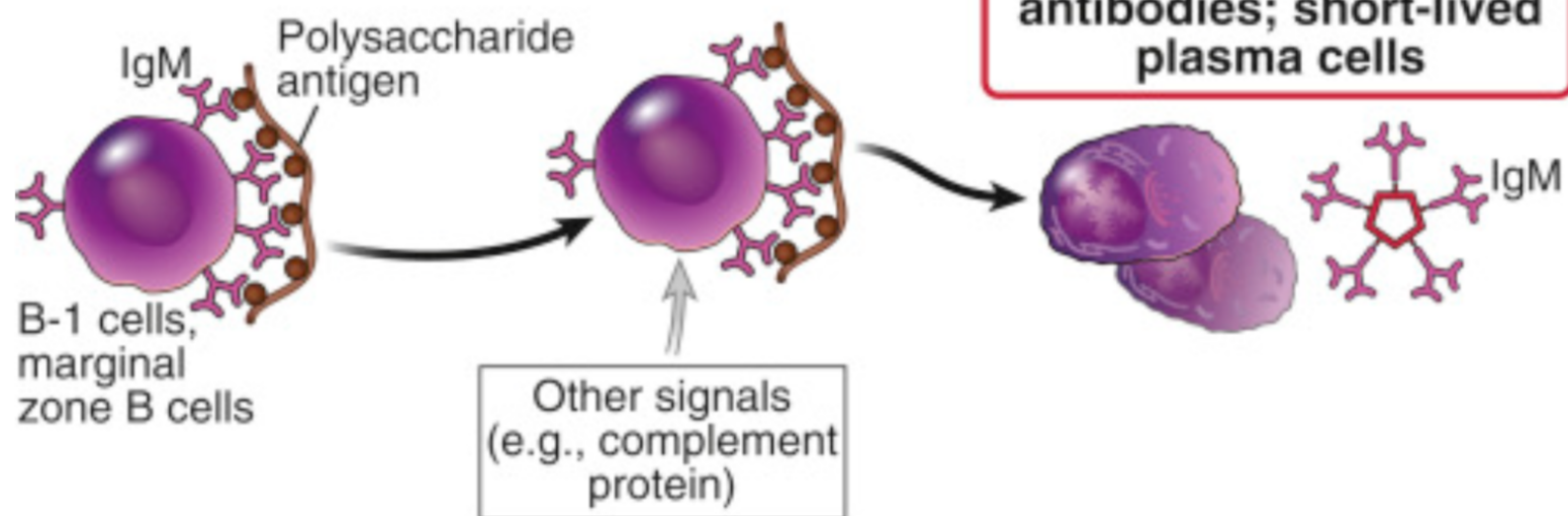
Antikorların özellikleri

- Antijeni özgül olarak bağlama
- Kompleman aktivasyonu (Ig G ve Ig M)
- Opsonizasyon (Ig G)
- Toksin ve virüs nötralizasyonu (Ig G)
- ADCC (Ig G ve Ig E)
- Mast hücrelerinden histamin salınması (Ig E)

T-dependent



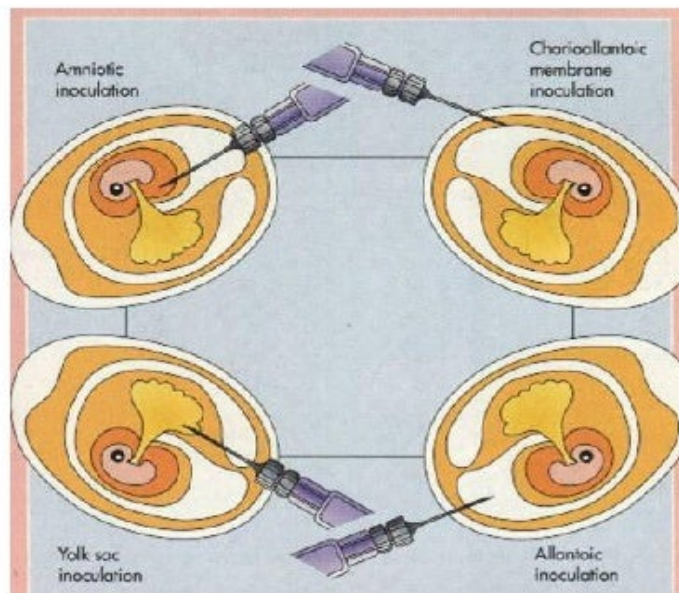
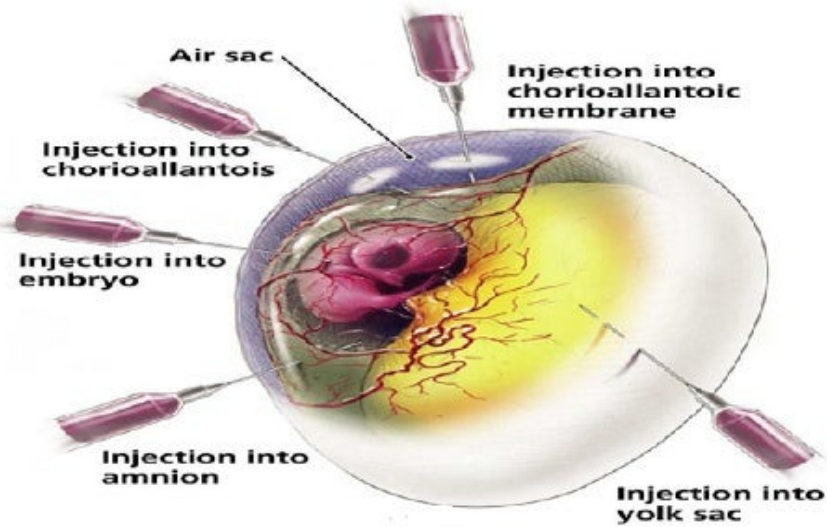
T-independent

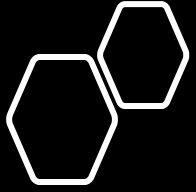


Nötralizasyon Testi

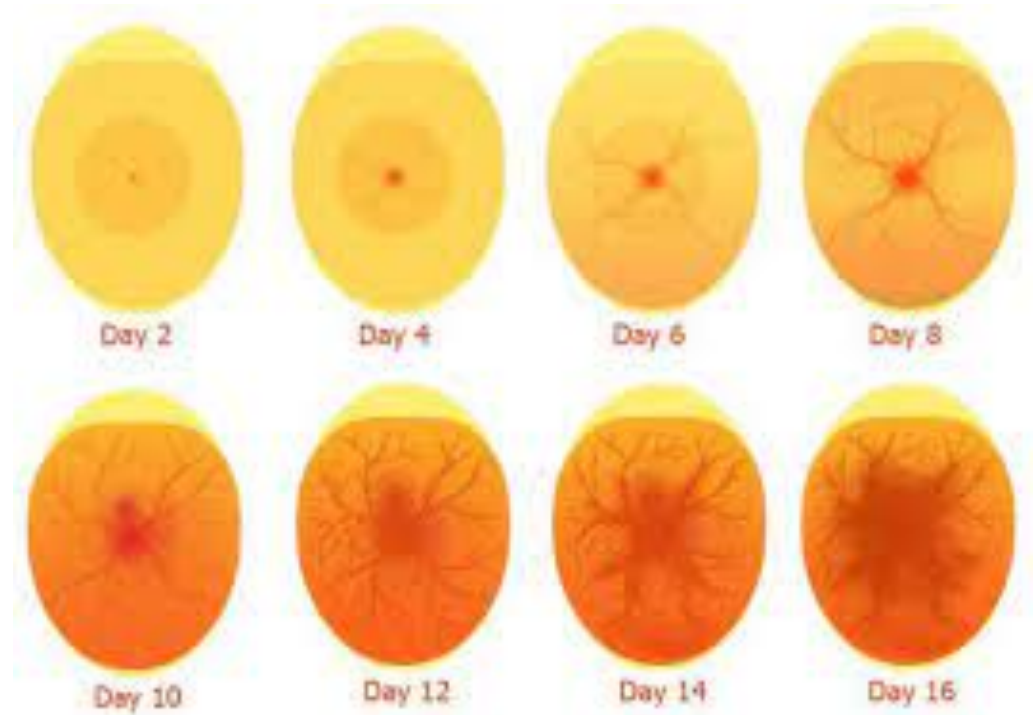
Nötralizan antikorların ortaya konmasında hücre kültürleri ve embriyolu yumurtalardan fazlaca yararlanılır.

Hücrelerde CPE yapan veya embriyolu yumurtalarda ölümler oluşturan viruslar, kendine karşı oluşmuş antiviral antikorla oda ısısında 30-40 dk. tutulduktan sonra, canlı sistemlere ekildiğinde hücrelerde CPE'ler ve embriyolarda ölümler görülmez (nötralizasyon pozitif) veya bu olgularda, antikorun miktarına göre değişik derecede azalmalar görülür.

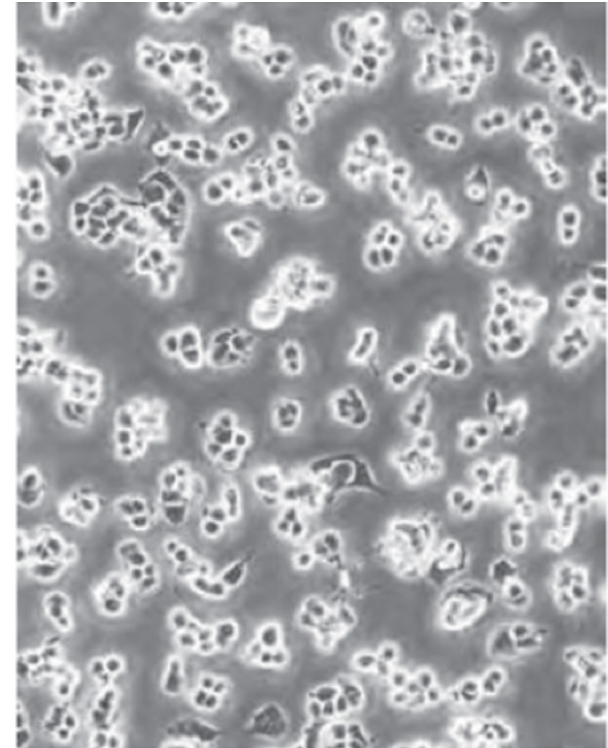
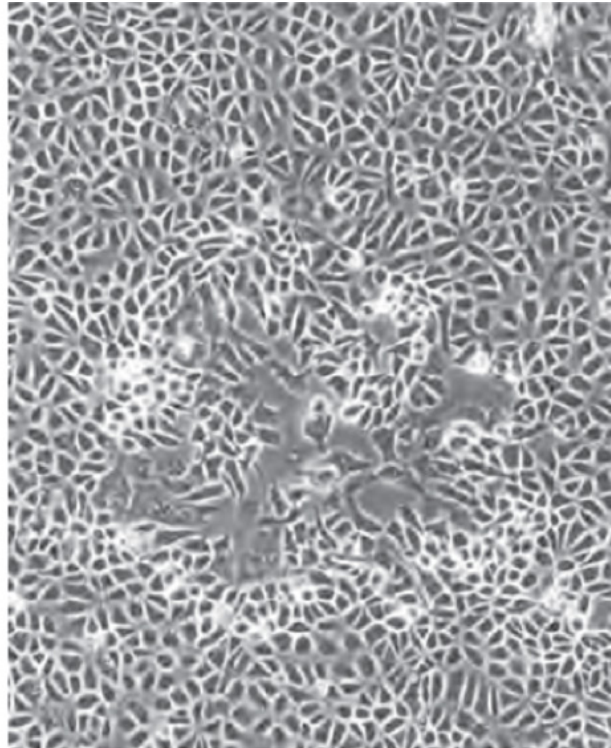
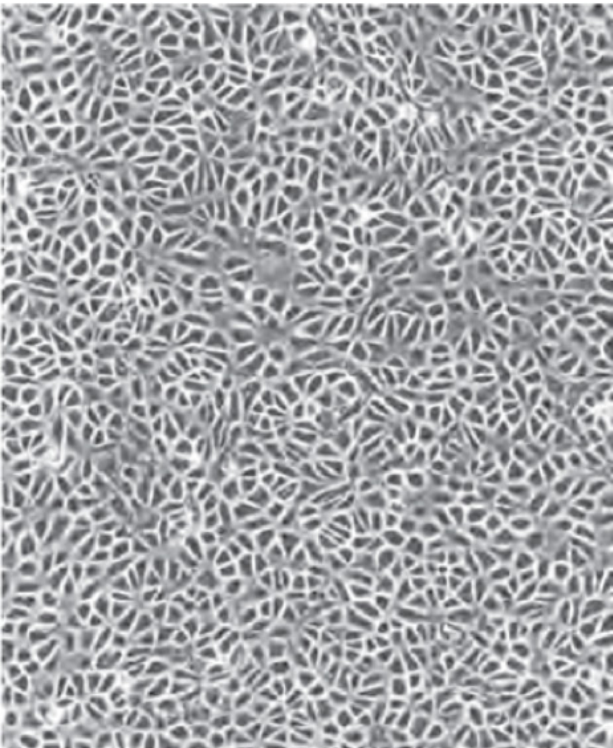




Tavuk Embriyosu Virüs Kültürü



Sitopatik Etki (CPE)

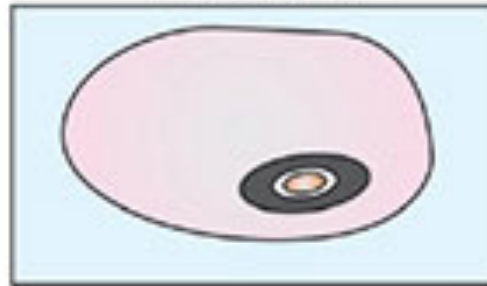


Sitopatik Etki (CPE)

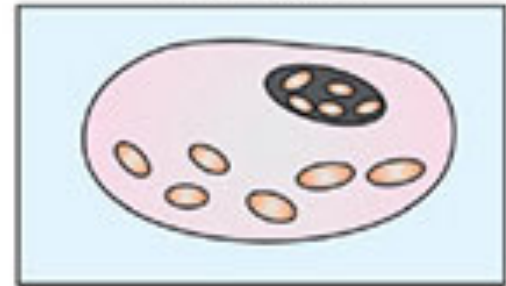
Cytoplasmic inclusions



Nuclear inclusions



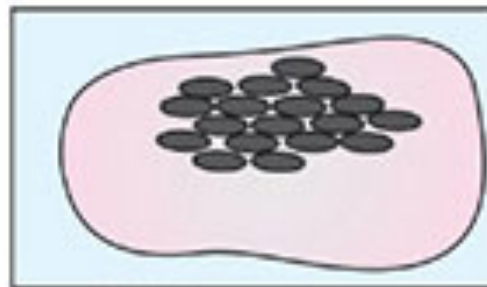
Cytoplasmic / nuclear inclusions



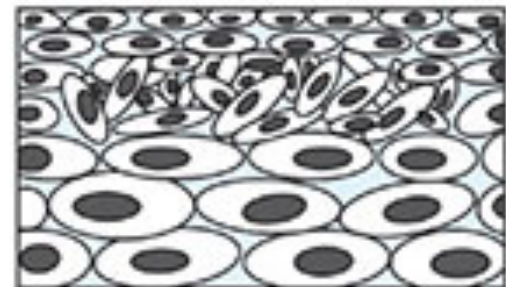
Cytopathic effects



Lysis

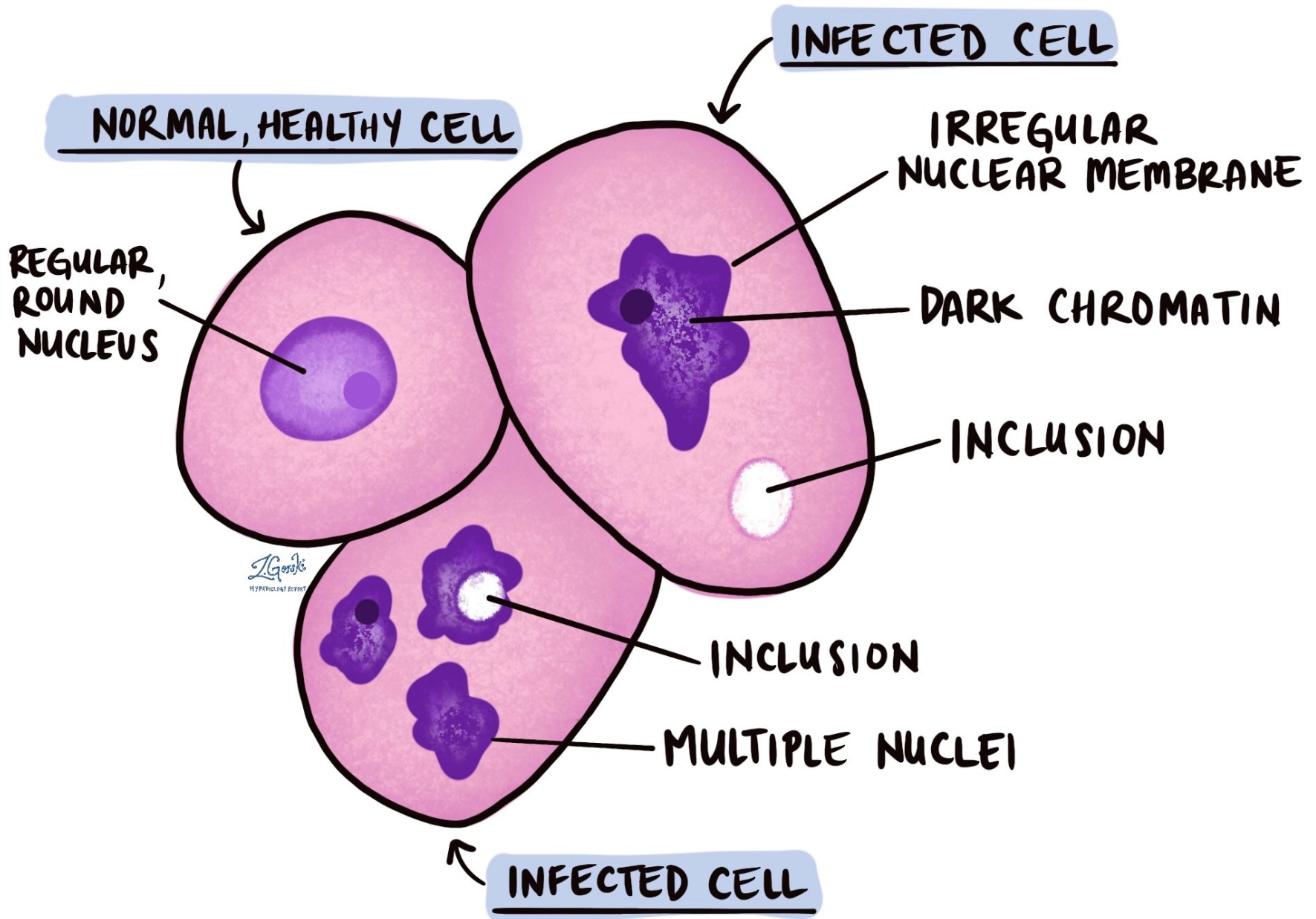


Multinucleated syncytium

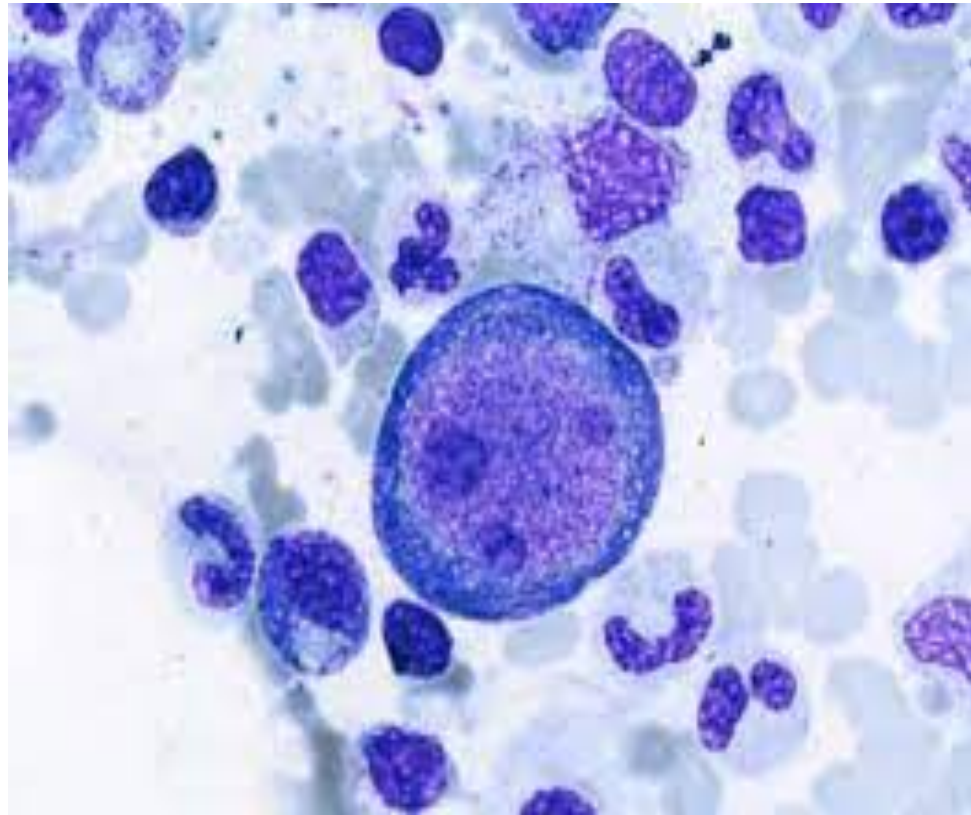


Transformation

VIRAL CYTOPATHIC EFFECTS



Sitopatik Etki (CPE)



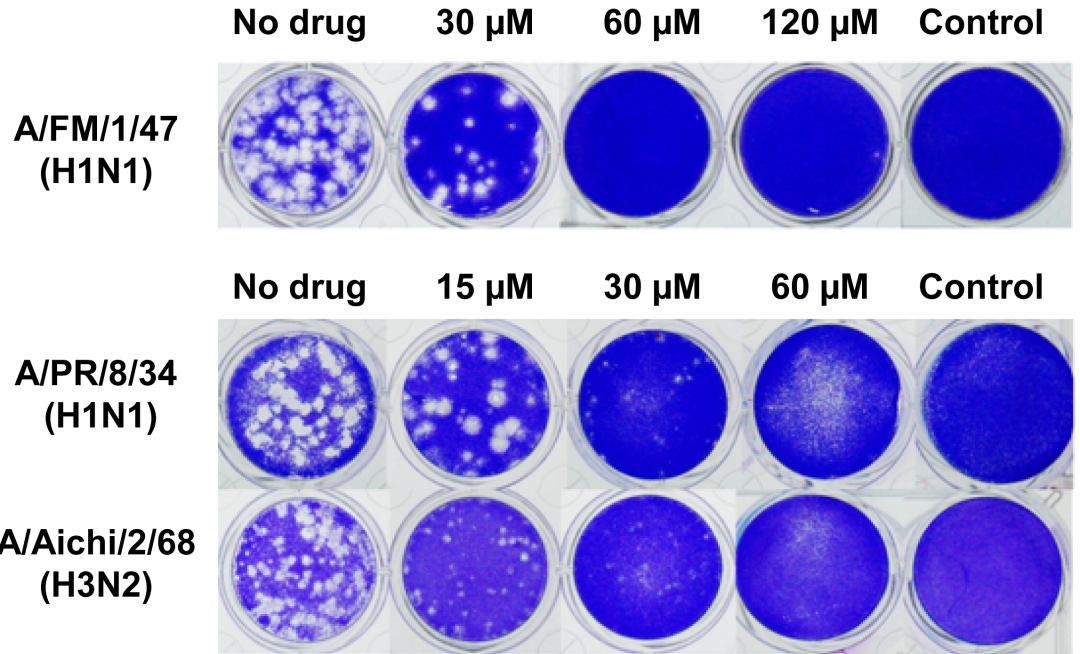
Nötralizasyon Testi

- Hücrelerde üreyerek CPE yapan virusların çoğu, besleyici agarla kaplanan hücrelerde plaklar (CPE odakları) oluşturur.
- Eğer virus, kendine, karşı oluşmuş antiviral homolog antikorlarla karıştırıldıktan ve oda ısısında 30-40 dk. bekletildikten sonra monolayer hücreler üzerine ekilir ve bir süre sonra hücreler besleyici agarla kaplanmışsa, hücrelerde ya hiç plak oluşmaz (plak nötralizasyonu) veya plak sayısında azalmalar olur (plak redüksiyonu).

Nötralizasyon Testi

Plak sayısında %50 ve fazla olan azalmalar redüksiyon pozitif olarak değerlendirilir.

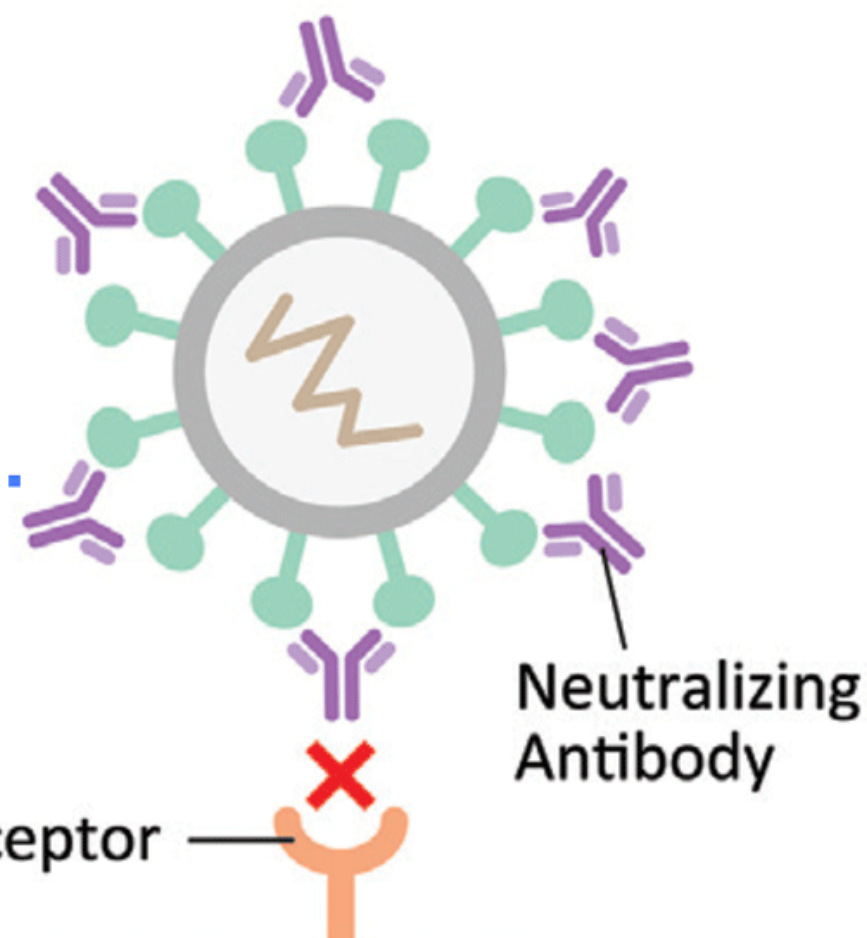
Kontrol hücrelerle karşılaştırması yapılır.



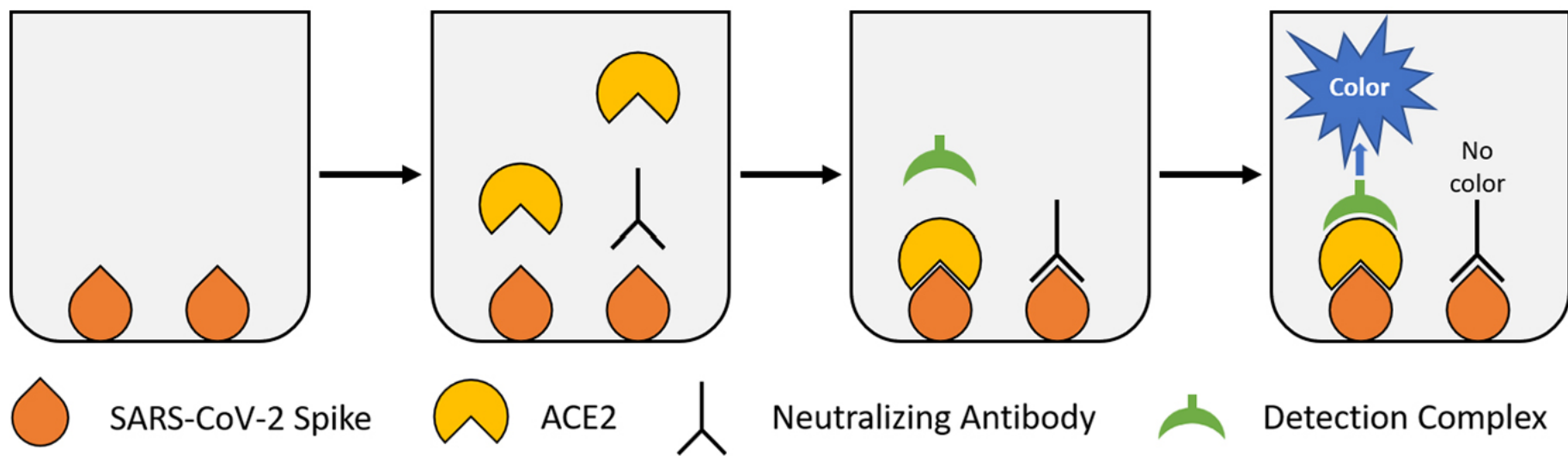
Binding



No Binding



Human Cell

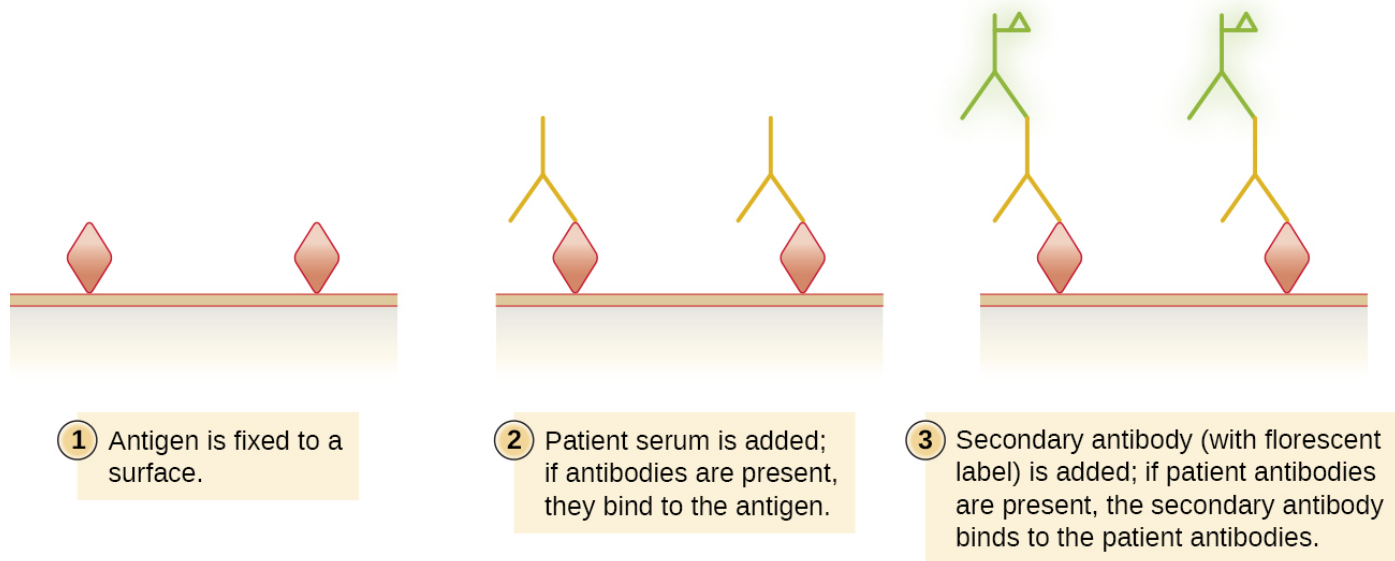


Lateks Aglütinasyonu

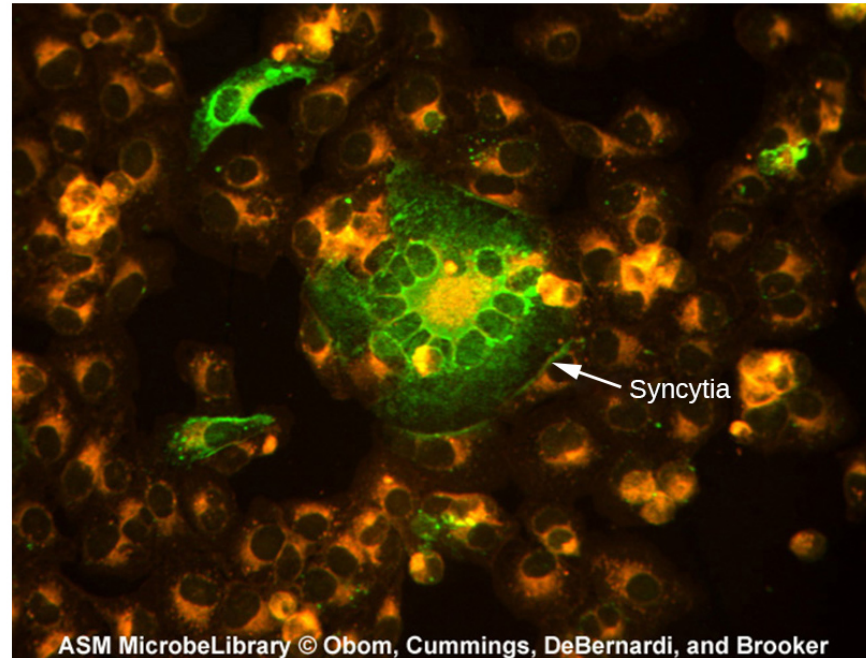
- Bu test de, hem antikorları hem de antijenleri belirlemede kullanılabilir. Lateks partikülleri (0,80 mm çapında, polistern) immunojenik moleküllerle kaplandığında, kandaki antikorları saptamada veya eğer lateks partikülleri spesifik antikorlarla kaplanırsa virusları (antijenleri) belirlemede kullanılır.
- Her ikisinde de pozitif olgularda aglütinasyon meydana gelir ve lateks partikülleri kümeleşirler (lateks aglütinasyonu).

İmmunfluoresans Antikor (IFA) Testi

- Bir antijen-antikor reaksiyonu olan bu testte, **spesifik antikorlar fluorokrom bir boya (FITC, Auramine, Rhodamin, vs)** ile boyanmıştır.
- Bir preparatta homolog antijenin bulunduğu durumlarda üzerine boyalı antikor konursa, boyalı antikorlar antijenle birleşir ve UV-ışınları ile donatılmış mikroskop altında sarı-yeşil parlak bir floresans vererek kolayca fark edilirler.



(a)



(b)

Koruyucu etkililik (*challenge*) alışmaları

Hayvan modellerinin uygunluğunu doğrulamak ve aşı adayının koruyucu etkisini araştırmak için ilgili enfeksiyöz ajan ile koruyucu etkililik (*challenge*) alışmalarının gerçekleştirilmesi beklenir.

Bu tür çalışmalardan elde edilen verilerin yorumlanmasında, hayvan modelinin insanlardaki hastalığa ve bağışıklık tepkisine ne kadar benzediğini belirlenmelidir.

Koruyucu etkililik (*challenge*) alışmaları

İnsanlarda ilk klinik araştırmaya başlamadan önce koruyucu etkililik (*challenge*) alışmalarının tamamlanması zorunlu değildir.



Bununla birlikte, ürün geliştirme sürecinin erken döneminde kavram kanıt koruyucu etkililik (*challenge*) alışmalarının yapılması ve daha fazla sayıda gönüllü içeren faz 2 ve faz 3 araştırmalar öncesinde aşı adayı için eksik olan koruyucu etkililik (*challenge*) alışmalarının tamamlanması beklenir.

Koruyucu etkililik (*challenge*) çalışmaları

İmmünojenisite değerlendirmesi ile birlikte koruyucu etkililik (*challenge*) çalışması, takip eden klinik araştırmalarda immünolojik sonlanım noktalarının belirlenmesine katkı sağlayacak olan, koruyuculuk ve koruyucu etkinin mekanizması hakkında önemli bilgiler sağlayabilir.

Koruyucu etkililik (*challenge*) çalışmalarında biyogüvenlik seviyesi gerekliliklerine uyulmalıdır.



AŞI ETKİNLİĞİ (KORUYUCULUK ORANI)

- Aşı etkinliği, aşının, söz konusu hastalığı önleme yani hastalıktan koruma olasılığını ifade eder. Bir aşının rutin hizmete sokulmasındaki en temel kriter, aşının koruyuculuk oranıdır.
- 

AŞI ETKİNLİĞİ (KORUYUCULUK ORANI)

- Bunun için önce aşı olan ve olmayanlarda hastalığın görülme sıklığı yani “atak hızı” hesaplanır. Atak hızı, enfeksiyon hastalıklarına özgü bir ölçüttür ve belli bir sürede belli bir toplumda hastalığa yakalananların sıklığı olarak hesaplanır.

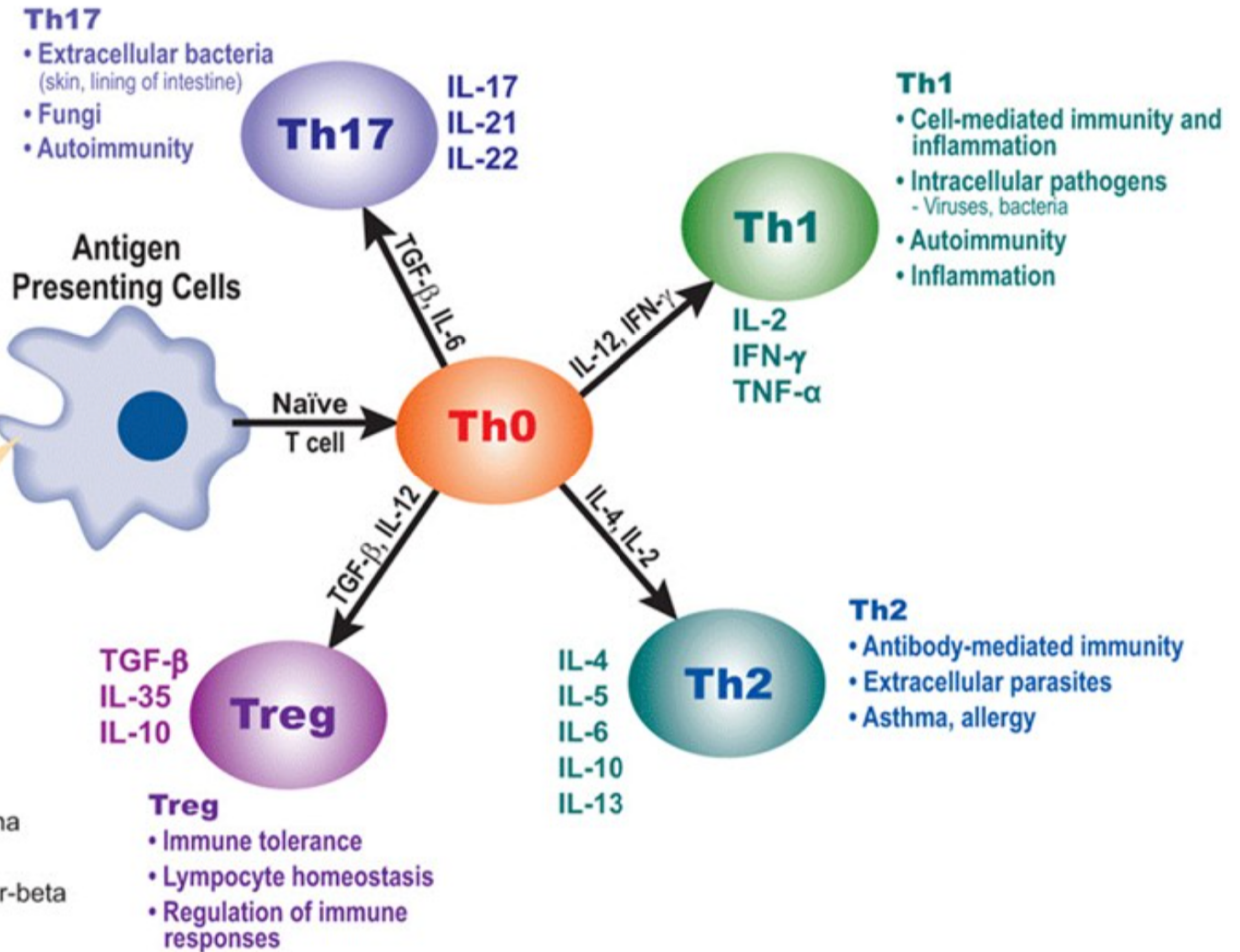
AŞI ETKİNLİĞİ (KORUYUCULUK ORANI)

- Aşı etkinliğini hesaplayabilmek için aşı olanlarda ve aşı olmayanlarda hastalığın atak hızı saptandıktan sonra aşağıdaki formül uygulanır. Aşının etkinliği, aynı zamanda aşının hastalığı ne kadar azalttığını da gösterir.

$$\text{AŞININ ETKİNLİĞİ (\%)} = \frac{\text{Aşı Olmayanlarda Atak Hızı} - \text{Aşı Olanlarda Atak Hızı}}{\text{Aşı Olmayanlarda Atak Hızı}} \times 100$$

Physical Triggers of Immune Response:

- **Infections**
 - Bacterial, viral
 - Fungal, parasitic
- **Toxins**
 - Exogenous
 - Endogenous
- **Food peptides**
- **Allergens**
- **Medications**
- **Auto antigens**



Th0: Naïve T cells

Th: Helper T cells

Treg: Regulatory T cells

IL: Interleukin

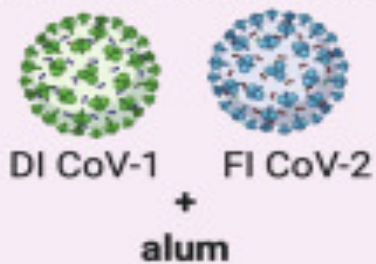
TNF- α : Tumor necrosis factor-alpha

IFN- γ : Interferon-gamma

TGF- β : Transforming growth factor-beta

1 Antigens

Whole-inactivated virus



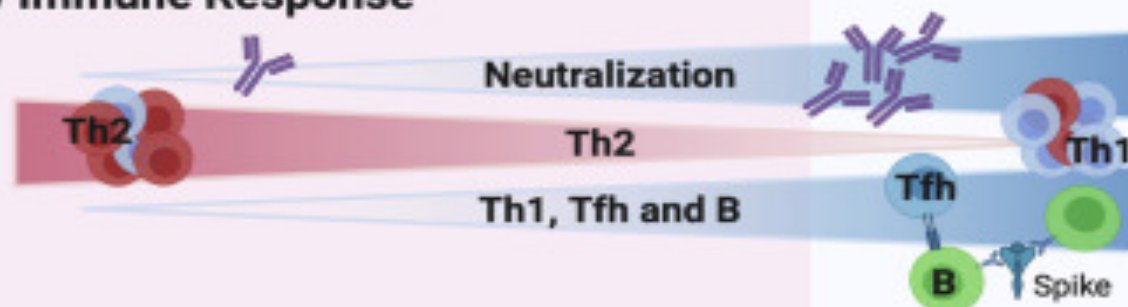
Denatured spike



mRNA-LNP



2 Immune Response

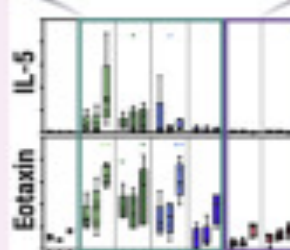


3 Outcome after SARS-CoV-2 MA10 challenge

Enhancement



EMBP



Protection



EMBP

SEKONDER FARMAKODİNAMİK ÇALIŞMALAR (GÜVENLİLİK FARMAKOLOJİSİ)

- **Güvenlilik farmakolojisinin amacı, aşı adayının yaşamsal işlevler üzerindeki etkilerini araştırmaktır.**
- Klinik dışı çalışmalardan ve/veya klinik araştırmalardan elde edilen veriler, aşının bağışıklık sistemi fonksiyonlarından öte fizyolojik fonksiyonları (örn. merkezi sinir sistemi, solunum, kardiyovasküler ve böbrek fonksiyonları) etkileyebileceğini düşündürüyorsa, güvenlik farmakolojisi çalışmaları toksisite değerlendirmesine dahil edilmelidir.

Tek doz toksisite alışmaları

- Tek doz toksisite çalışmaları, insanlarda önerilen doz ile ilgili olarak yeterli bir güvenlik aralığı sağlayan bir dozla en az bir hayvan türü ile gerçekleştirilmelidir.
- **Ancak bu çalışmada toksik bulgular görülür ise doz yanıt ilişkisi daha fazla karakterize edilmelidir.**
- Bu veriler, önemli organların histopatolojisinin dâhil edilmesi koşuluyla, hayvan immünojenisite çalışmalarının veya güvenlilik farmakolojisi çalışmalarının bir parçası olabilir.

Tek doz toksisite çalışmaları

- Ürünün toksisitesine bağlı olarak, hayvanlarda morfolojik ve fizyolojik değişikliklere bağlı klinik bulguların (hematolojik, biyokimyasal ve idrar verilerinin) test süresince belirli aralıklarla izlenmesi ve kayıtlarının tutulması, **test sürecinde ölen hayvanlarda otopsi sonrası histopatolojik incelemelerin yapılması gereklidir.**

Tekrarlı doz toksisite çalışmaları

- İlgili bir hayvan türünde yapılacak toksisite çalışmaları klinik araştırmaların başlatılmasını desteklemek adına yeterli olabilir.
- Bununla birlikte, ürünü tanımlamak için iki veya daha fazla türde çalışmaların yapılmasının gerekli olduğu durumlar mevcuttur (örneğin aşı tarafından indüklenen koruma mekanizmasının iyi anlaşılmadığı durumlarda).
- **Tekrarlı doz toksisite çalışmaları, en az birisi kemirgen olmayan iki memeli türünde gerçekleştirilmelidir.**

Tekrarlı doz toksisite çalışmalarında toplanacak dokuların listesi

- Böbreküstü bezleri
- aort
- kemik (femur) ve eklem
- kemik iliği içeren kemik (sternum)
- kemik iliği smearleri⁶
- beyin
- bronş (ana kök)
- Çekum
- kolon
- onikiparmak bağırsağı
- epididimis
- gözler
- kalp
- ileum
- enjeksiyon yerleri
- jejunum
- böbrekler ve üreterler
- larenks
- karaciğer
- akciğerler
- lenf nodu (mandibuler)
- lenf nodu (mezenterik)

- siyatik sinirler
- seminal veziküller
- iskelet kası
- deri
- omurilik (servikal, torasik, lumbar)
- dalak
- mide
- testisler
- timus
- tiroid bezleri
- dil
- soluk borusu
- üreterler
- idrar kesesi
- uterus (boynuzlar + serviks)
- vajina
- tüm makroskopik lezyonlar



Klinik araştırmalarda kullanılacak ürünler, iyi İmalat Uygulamaları (İİU) (*GMP*) koşullarında üretilmelidir.



Klinik dışı çalışmalarda kullanılan aşı serileri, klinik araştırmada kullanılması amaçlanan formülasyonu yeterince temsil etmelidir



İdeal olarak klinik araştırmalarda kullanılması amaçlanan aşı serileri ile klinik dışı testlerde kullanılan aşı serileri aynı olmalıdır.



Eğer bu mümkün değilse, klinik dışı çalışmalarda ve klinik araştırmalarda kullanılan seriler, fiziko-kimyasal veriler ve formülasyon açısından karşılaştırılabilir olmalı ve bu durum belgelendirilmelidir.