

Aşı Teknolojisi ve Aşı Tipleri

Prof. Dr. Sesin Kocagöz

Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi

Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı



Aşı nedir?

- insan ve hayvanlarda humoral ve hücresele yoldan aktif bağışıklığı uyararak infeksiyonlara karşı koruma sağlayan medikal preparatlardır



TÜBİTAK-ARDEB
Aşı Çağrı Programı

“SB0101 - Viral, Bakteriyel Patojen ve Parazitlere Karşı Aşı Geliştirilmesi”
Çağrı Metni

- **Aşılar bulaşıcı hastalıklar, buna bağlı sakatlık ve ölümlerin azaltılması ve en önemlisi, uzun vadede hastalık etmeninin ortadan kaldırılması açısından insan ve toplum sağlığını korumada vazgeçilmez bir öneme sahiptir**
- **Bu amaca yönelik olarak aşılama uygulamaları ile bulaşıcı hastalıkların görülme sıklığını azaltmak birinci sıradaki hedefler arasında yer almaktadır**
- **Bu çağrı : bulaşıcı hastalıklardan korunma ve bu hastalıklara bağlı ölümleri azaltmak amacıyla aşı ve terapötik antikor/anti-serum geliştirilmesi amaçlanmaktadır**

Yeni Aşı Geliştirilme Hedefi

- öncelikli olarak ülkenin ve/veya bölgenin ihtiyaçlarına göre hazırlanması
 - ARDEB çağrısında ek olarak = ülkenin dışa bağımlılığını azaltması beklenmektedir.
- yeni aşı antijenlerinin ve terapötik antikor/anti-serumların geliştirilmesi
- mevcut olanların üretim teknolojilerinin iyileştirilmesi
- immünojenitesi yeterli bir prototip ve formülasyonunun oluşturulması hedeflenmektedir

TÜBİTAK-ARDEB

Aşı Çağrı Programı

“SB0101 - Viral, Bakteriyel Patojen ve Parazitlere Karşı Aşı Geliştirilmesi

- Bu çağrı kapsamında hedeflenen ürün/teknolojik çıktılar şunlardır:
- ? viral patojenlerden öncelikli:
Hepatit B, Influenza, Kızamık, Kızamıkçık, Kabakulak, Kuduz, KırımKongo Kanamalı ateşi virüsleri, Papillomavirus ve Rotavirus olmak üzere karşı koruyucu ve güvenilir aşılar
- Bakteriyel patojenlerden öncelikli :
Streptococcus pneumoniae, Neisseria meningitidis ve Mycobacterium tuberculosis olmak üzere bakteriyel patojenlere karşı koruyucu ve güvenilir aşılar
- Parazit için öncelikli :
Leishmania ve Toksoplazma olmak üzere parazitlere karşı koruyucu ve güvenilir aşılar
- ? Aşıların etkinliğini arttıracak adjuvanlar
- ? Kuduz, Hepatit B, Kırım-Kongo Kanamalı ateşi virüsleri için terapötik antikor/antiserumlar

Aşı geliştirme aşamaları

- **Hedeflenen etkene karşı aşı üretiminde kullanılacak suş ve antijenlerin üretilmesi -oluşturulması**
 - hücre kültürü
 - mikrobiyolojik kültür yöntemleri
 - rekombinant DNA teknolojisi
- **Aşılarda kullanılacak antijenlerin ve suşların uluslararası standartlara uygun üretilmesi**
 - Avrupa Farmakopesi
 - ICH-Uluslararası Harmonizasyon Topluluğu: insan kullanımı için geliştirilen farmasötiklerin kayıtlanması için teknik gereklilikleri
- **Aşı formülasyonlarının hazırlanması**
- **in vitro deneyler ve in vivo hayvan deneylerinin (klinik öncesi) yapılması**
 - Etkin hücresel ve/veya hümmoral bağışıklık oluşturan güvenilirliği kanıtlanmış prototip aşı
- **Prototip aşı/aşıların geliştirildikten sonra: klinik çalışmaların (Faz 1, Faz 2, Faz 3) tamamlanması**
- **kaliteli, etkin ve güvenilir aşı/aşıların ruhsat aşamasına getirilmesi**

Bir aşıda bulunması gereken ideal özellikler

- Etkin
- Stabil
- Ucuz
- Güvenli
- Erişilebilir



Aşı Uygulama Yolları

- İntramusküler (İM)
- İntravenöz (İV)
- Dermal
- İntradermal
- Cilt altı («Subcutan»)
- İntranazal : Kitle aşılamaalarında
- Oral

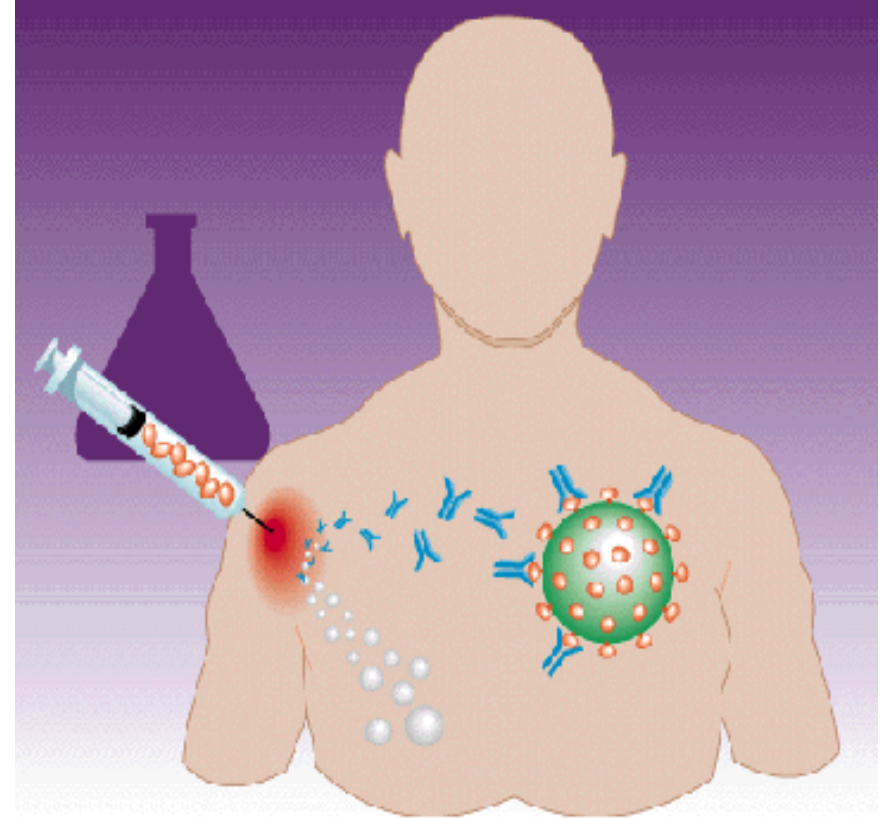
Takım alışması

- Farklı disiplinlerden araştırma ekibi:
- Mühendislik
- saęlık /klinik bilimler
- temel bilimler
- Proje ekibinde, konu ile ilgili olarak bilimsel makale, patent veya patent başvurusu olan araştırmacıların yer alması



Aktif bağışıklamada AŞI

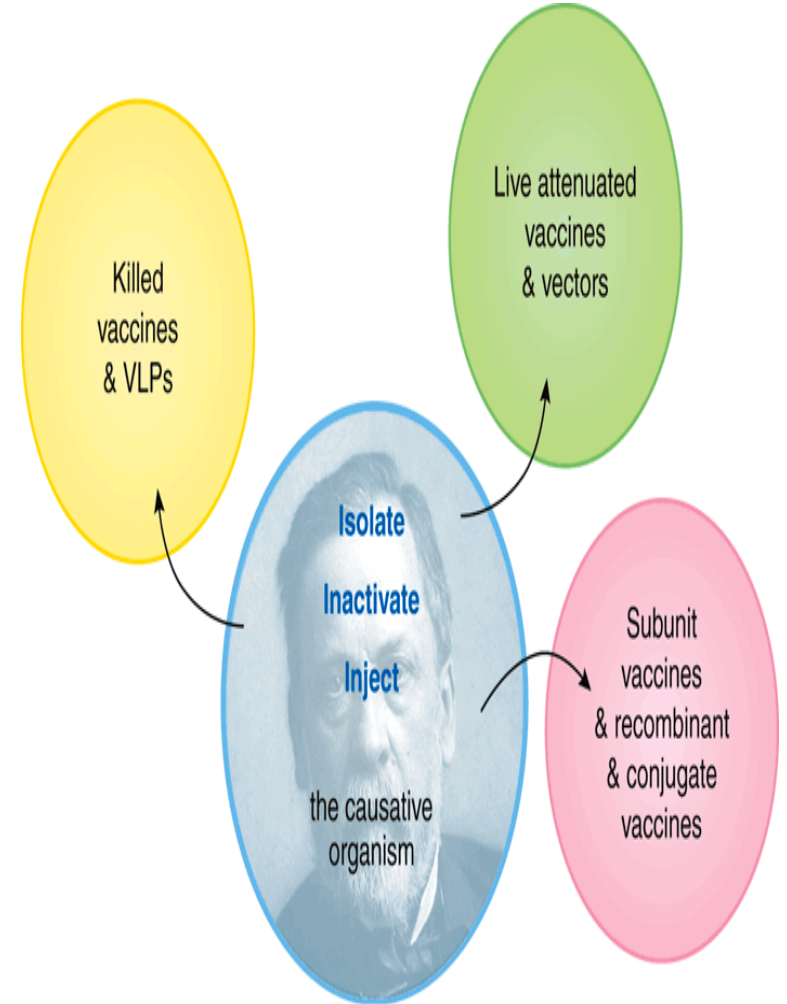
- Hastalığı oluşturan etkenden
 - izole edilen veya oluşturulmuş olan antijen kullanılır.
- genelde enjeksiyon yolu ile dolaşım sistemine ulaştırılırlar
- Dolaşımdaki B hücreleri enjekte edilen antijene karşı antikor yanıtı oluştururlar.



Lisanslı aşılar halen Pastör'ün prensiplerine göre geliştirilmektedir

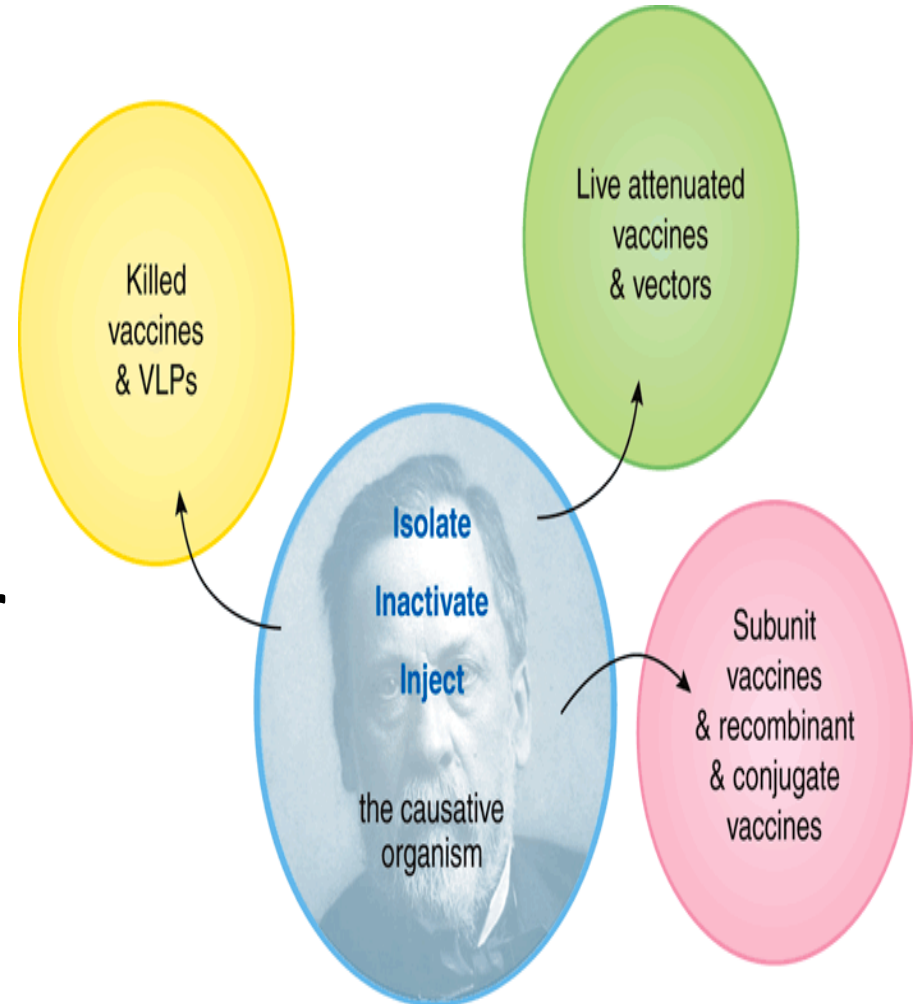
Aşı hedeflenen mikroorganizma

- İzole et
- İnaktive et
- Enjekte et



Aşı tipleri

- **Canlı aşılar**
- **Ölü aşılar**
- **Toksoidler**
- **Subunite ve Konjuge aşılar**
 - **Rekombinant aşılar**
- **Anti-idiotip antikolarlar**
- **DNA aşıları**



Canlı Aşılar

- Çeşitli yöntemler ile attenüe edilmeleri yolu ile elde edilirler
 - Benzer etken tipinin kullanılması:
 - çiçek de Edward Jenner'in «coxpox» tipini kullanması
- Farklı üreme ortamlarında (Hücre kültürleri veya hayvan embriyoları)çok sayıda pasajlama ile attenüe edilir.
 - Sarı humma: önce fare sonra civciv embryo
 - Poliovirüs: maymun böbrek hücreleri
 - Kızamık: civciv embriyo fibroblastları

- vücuda verildiklerinde, ürer, yayılır ve immun sistemi (lenfoid ve miyeloid hücreleri) uyarırlar
- İmmünite daha uzun süreli ve yüksek dozda olur

Kontrendikasyonları:

immun yetmezliği olanlarda, immun supresif ilaç kullananlarda, kronik/ latent infekte bireylerde , gebelerde

Çiçek, kızamık, kızamıkçık, kabakulak, polio(Sabin), sarıhumma, rotavirus, varisella (suçiçeği), Zoster (zona), influenza (nazal formu) ve BCG



Aşı etkimsizliği ve güvenilirliği problemi :

- Yetersiz atenuasyon
- Virulansa geri dönüşen mutasyon riski
- Üretilirken ortamdan başka etken ile kontaminasyon
- Uygunsuz saklama koşulları (Soğuk zincire uyamama)
- Uygunsuz uygulama
- İmmün yetmezlikli kişilere uygulanamaması
- Eş dönemde diđer viral etkenler ile interferans
 - Ör: Gelişmekte olan ülkelerde oral polio aşısının etkinliğinin düşük olması

Inaktif (Ölü) Aşılar

polio (İPV, Salk), kolera, hepatit A, veba, kuduz

- Kullanımı kolay
- Transportu kolay
- Elde edilmesi kolay
 - Etken inaktivasyonu : kimyasal, ısı, veya radyasyon ile yapılır
- Tüm antijenleri : hücre duvar ve içeriği ile genetik materyeli içerir.
- Yeterli immün yanıt oluşturması için
 - ek adjuvan eklenebilir
 - Antijen dozu daha fazladır
- İnflamatuvar ek yanıtı neden olabilir



Jonas Salk chose not to patent his 1955 polio vaccine, making it more affordable for the millions of people who needed it.



As a result, he missed out on earning an estimated US\$7 billion.
Thank you, Dr Salk (1914 – 1995).

İnaktif (Ölü) Aşı

- Kalıcı immünite (hücre sel immünite uyarımı zayıf) = doz tekrarı gerekir
- Aşırı inaktivasyon ile immünojenite özelliğinin yok edilmesi
- Tam inaktif edilememiş ise enfeksiyon görülebilir
 - Salk; sonrası polio olguları
 - Hücre kültürülerinin Sv40 kontaminasyonu=onkojenik potansiyel riski?
- Yüksek doz antijen verilmesi gerektiği için allerjik reaksiyon gibi yan etki riskinin artması
- Yoğun miktarlarda etkenin üretilmesindeki güçlük

Toksoid aşılar

Tetanoz ve difteri

- Hastalığın ana patojeni bakterinin toksini ise kullanılır
- Ekzotoksin bakterilerin kültür filtrarından elde edilir

Absorbsiyonu
uzatmak ve
antijenik etkiyi
arttırmak için
adjuvan kullanılır

Modification of Toxin to Toxoid



Subünite/Konjuge aşıları

İmmün yanıt oluşturmak için etkenin bir fragmanı ayrıştırılır ve aşı için kullanılır.

örnek: asellüler boğmaca, influenza aşısı (parenteral formu)

- Konjuge polisakkarit tipinde:
 - İmmünitelerini arttırmak için taşıyıcı proteinler kullanılır
 - Saflaştırılmış kapsül polisakkarit antijenleri taşıyıcı proteinler ile konjuge edilerek immünite oluşturma özellikleri arttırılır
 - Ör: Difteri toksini CRM 197 (non toksik mutant) ,Tetanoz toksoidi...

Subünite aşısı

Rekombinan aşı

- İmmunojenik bir proteini kodlayan genler izole edilir bir vektöre rekombine edilir
 - Bakteri, memeli veya mantar
- Rekombinasyona uğrayan antijen bu vektörde ekspresse edilmeye başlanır: Saflaştırılır Üretilen hücrelerden biyokimyasal yolla karbonhidrat veya protein olarak pürifiye edilir(saflaştırılır)
 - Hepatit B aşısı
 - İnfluenza

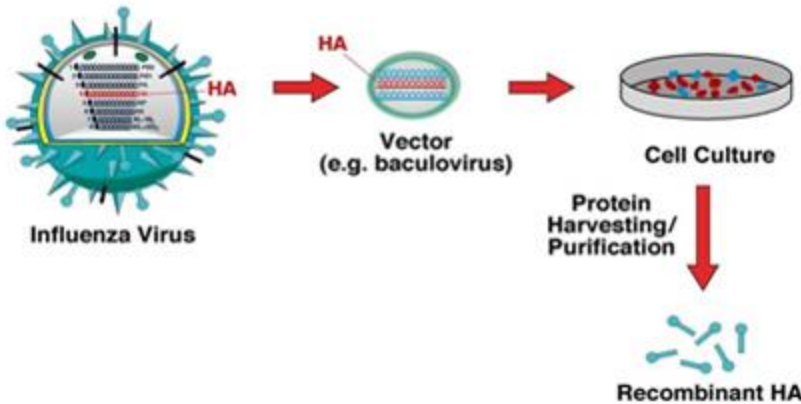
Rekombinant aşı

avantaj

- Kullanılan vektör hem güvenli hem de kolay üretilebilir
- aşı kolay saklanabilir
- Üretimi ekonomik

dezavantaj

- Geliştirilme aşaması güç ve pahalı
 - Hedeflenecek antijenik gen bölgelerinin saptanma aşaması
 - Klonlanmaları ve uygun vektörün bulunup immunolojik olarak stabil ve iyi bir yanıtın elde edilebilme çalışmaları

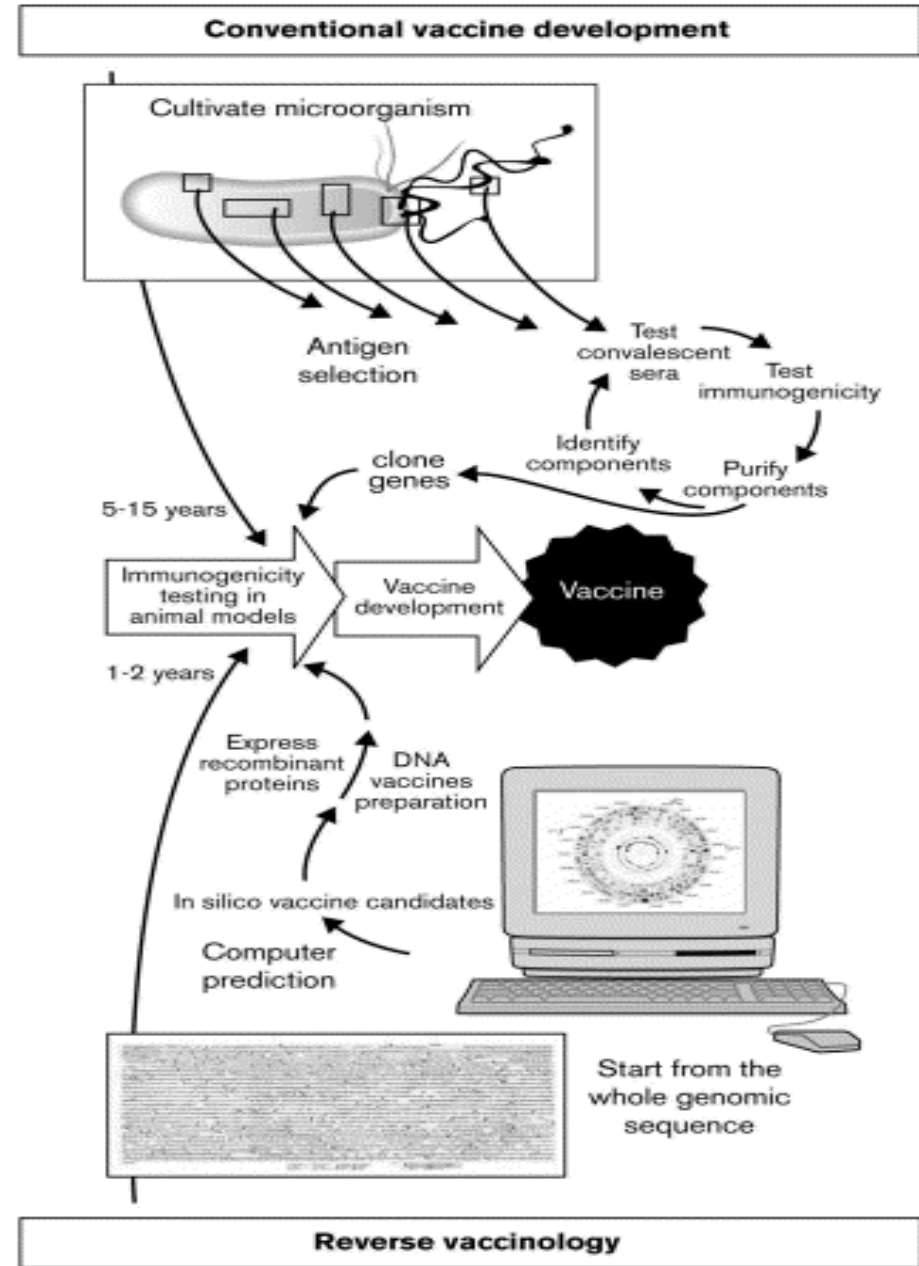


Subunit/Konjuge Rekombinant aşular

- Hepatit B Virüsü
- Influenza (enjekte edilen)
- Haemophilus influenza* type b (Hib)
- Pertussis/boğmaca (DTaP kombinasyonundaki)
- Pnömonokok
- Meningokok
- HPV

Tersine aşı geliştirme (Reverse vaccinology)

- Mikroorganizmaları üretmeksizin, gen sekanlarına ilişkin bilgiden hareket edilerek ve biyoinformatik sistemlerin yardımıyla aşuların tasarlanması
- Örneğin: Meningokok'un tüm tiplerine birden etki eden aşı



Sentetik peptid aşıları

N.gonorrhoea

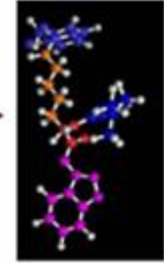
V.cholera B toksini subunit peptidi

- Pratik aşı alternatifi:
- Koruyucu immün sistemi uyaran ana peptid sekansların tanımlanarak sentetik yoldan aşıda kullanılacak miktarlarda üretilmesi

Avantaj:

- mutasyon veya virulans geri dönüşü riski yok
- Patojen veya toksik madde kontaminasyon riski yok
- Özellikle zor üreyen etkenler için ideal
- Birden fazla antijenik peptid sekansı uygulanabilir

- Dezavantaj:
- İmmünitesi daha az olabilir
 - Özellikle hücresel immünite azlığı
- Adjuvant gereksinimi
- Bir den fazla hatırlatma dozu yapılma ihtiyacı



Anti-idiotip Antikorları

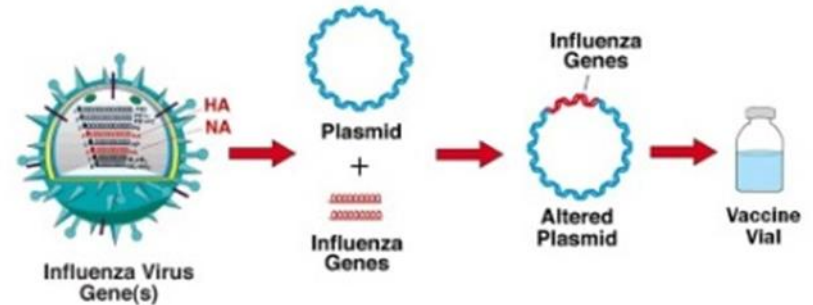
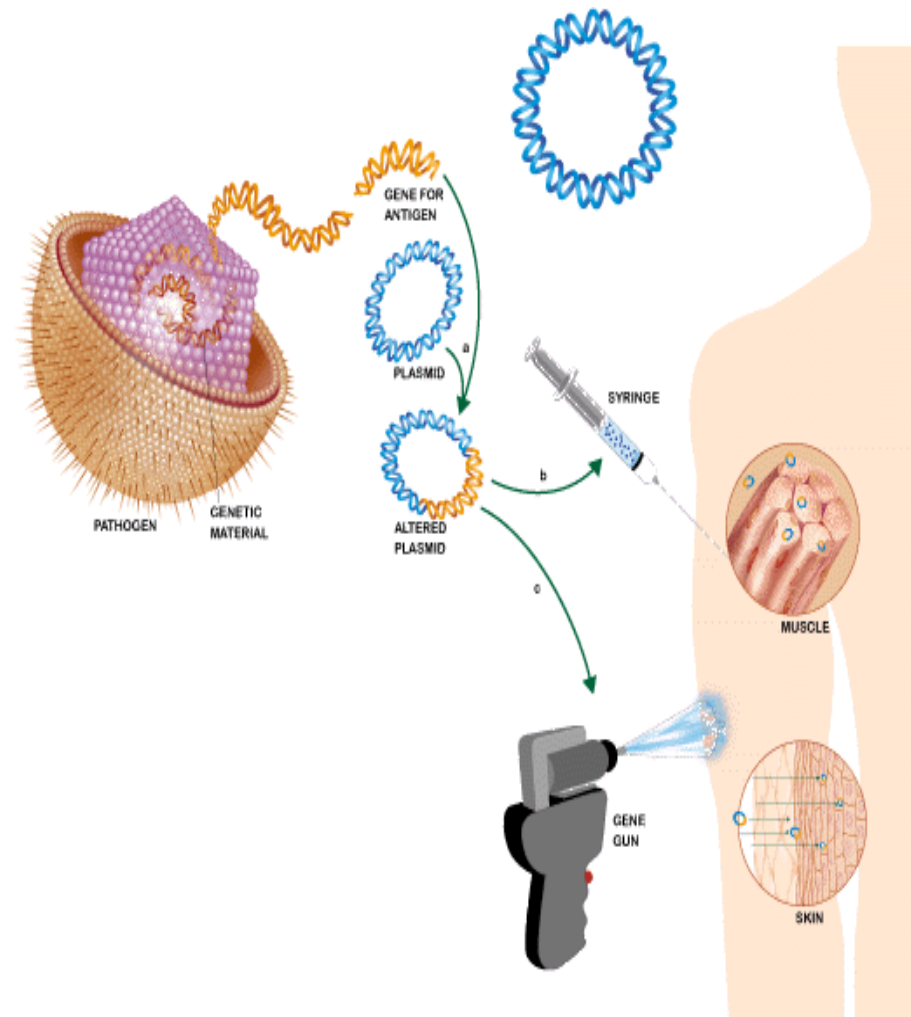
- Yabancı antijeni taklit ederlererek immün yanıt oluşturma mekanizması
- Antijene özgül sekansa karşı geliştirilen antikor veya Hücre reseptörü olabilir= özgül antikorların bağlanma bölgelerini tanıyan
- Antijenin güç elde edilmesi veya tehlike oluşturma durumları için kolaylık

Yapılan çalışmalar

- HBV
- Kuduz
- Newcastle hastalığı virüsü
- Reovirusler
- Poliovirus

DNA Aşıları

- Antijeni kodlayan DNA parçası enjekte ediliyor
 - Genelde gen izole edilip ilgili kısım plasmide klonlanıyor
 - Plasmid konağın hücreleri tarafından alınıp transkripsiyon ve sonunda da ekspresyonu sağlıyor
 - Ciltten «gen tabancası» ile plasmidler enfekte ediliyor
- Teorik olarak bu aşılar konak tarafından antijen oluşturulduğu için güvenilir ve yan etkisinin az olmasını düşündürüyor.
- DNA kolayca elde edilebildiği için üretilmesi kolay
- Çalışma: Malaria ve Hepatit B influenza, herpes simplex virus, T-cell lymphoma, ve HIV
- Geniş immünite oluşturabiliyor: Hücresel ve humoral antikor yanıtı
- Otoimmün yanıtı artışı?
- Onkojenik potansiyel?



Aşı



Nazal yoldan aşılama

- Canlı attenuue İnfluenza aşısı: (Live attenuated influenza vaccine veya LAIV)
- 50 yař altına öneriliyor



AEROSOL Yoldan Aşılama

- DSÖ : kızamık ve kızamıkçık için planlıyor
- Özellikle gelişmekte olan ülkeler başta olmak üzere kullanım kolaylığı

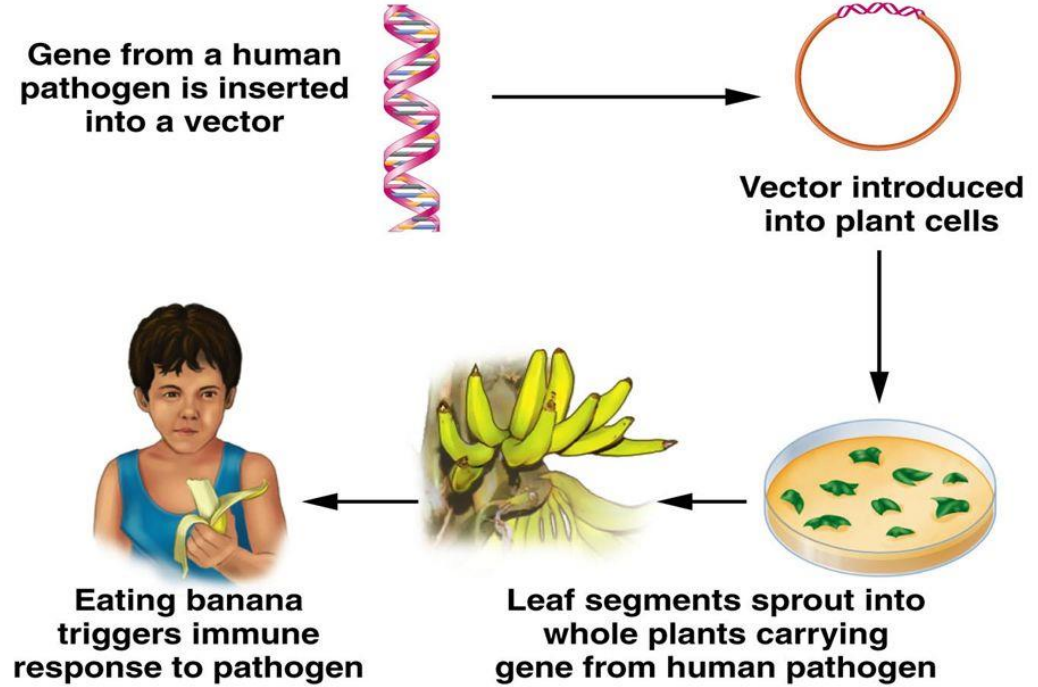


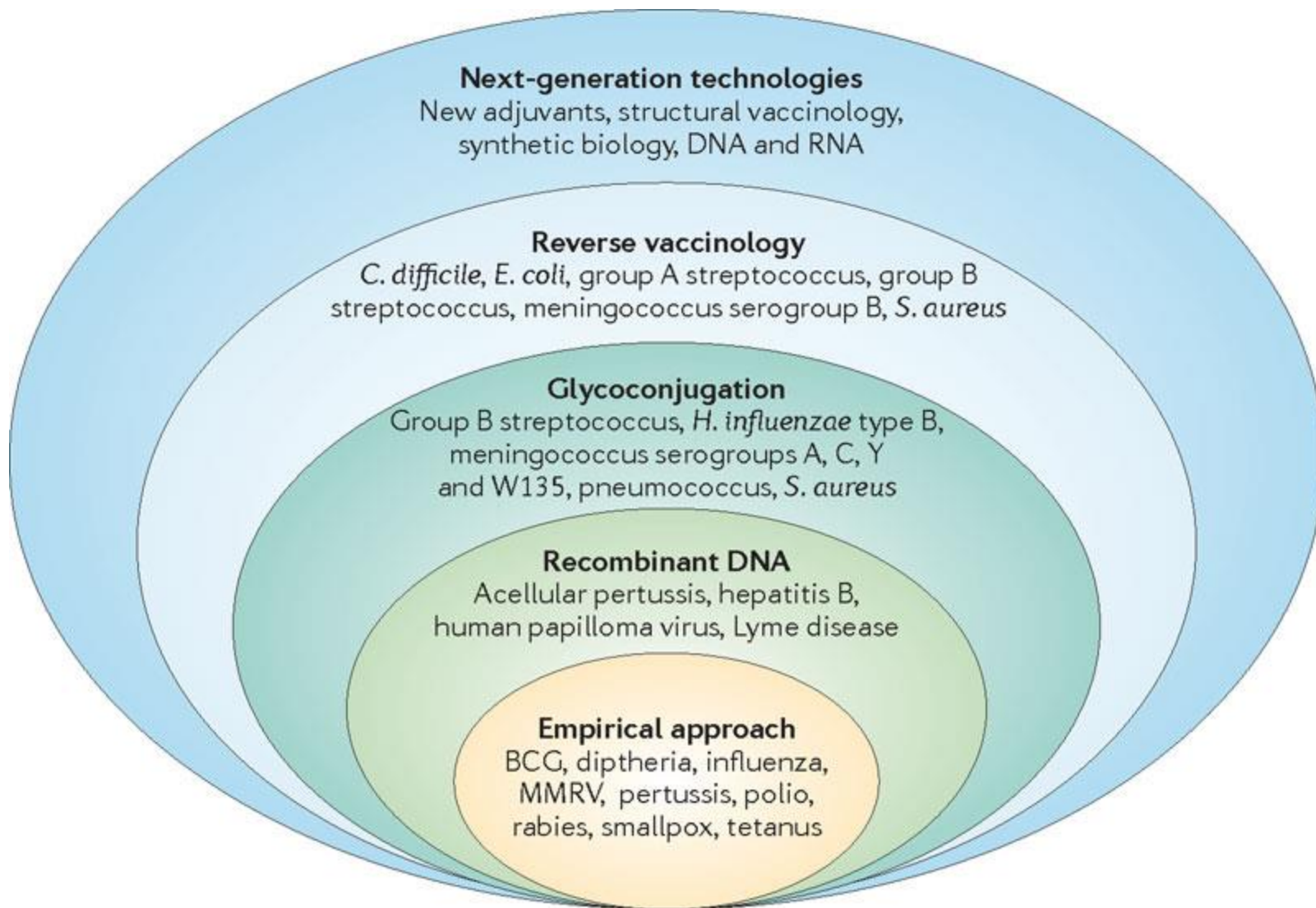


Yenilebilir Aşılar

- **Rekombinant teknoloji ile**
- **Ucuz ve kolay üretim**
- **Kullanımı rahat**
- **Çalışma:**
 - **hepatit B: muz**
 - **Kolera toksin: pirinç**

Recombinant DNA Approaches for Vaccine Production and Transgenic Plants with Edible Vaccines





Tablo 1: Mevcut ve gelecekteki aşılar

Mevcut Aşılar	2015 kadar çıkması beklenen yeni veya yeniden yapılandırılmış aşılar
<ul style="list-style-type: none">• BCG^a• Kolera (inaktive ve canlı)^b• DTB ve DTB bazlı kombinasyonlar^a• Haemophilus influenzae tip b^a• Hepatit A^a• Hepatit B^a• Human papiloma virus^a• İnfluenza^a• Japon ensefaliti (inaktive ve canlı)^b• Kızamık^a• Meningokok (polisakkarit ve konjuge)^a• Kabakulak^a• Pnömonok (polisakkarit ve konjuge)^a• Polio (OPV ve IPV)^a• Pseudomonas^b• Kuduz^b• Rift vadisi ateşi^b• Kızamıkçık^a• Tetanoz toksoid^a• Kene ile bulaşan ensefalit^b• Tifo^b• Rotavirus^a• Suçiçeği^a• Sarı humma^a	<ul style="list-style-type: none">• Deng^d• DTaB (iki P antijenli)^d• Enterotoksijenik E coli^d• Grup A streptokok^d• Pandemik influenz^a• Japon ensefaliti^c• Sıtma^d• Kızamık (aerosol)^c• Meningokok A(multi-serotip konjuge)^c• Var olan aşıların yeni kombinasyonları^d• Pnömonok (geliştirilmiş konjuge veya protein bazlı)^c• Polio (Sabin suşunu baz alan inaktive aşı)^c• RSV^d• SARS^d• Şigella^d• Tifo (konjuge)^d• Batı Nil Ateşi^d

^aRutin bağışıklamada kullanım için mevcut
^bÖzel bölgeler ve şartlar için mevcut
^cGeliştirilmesinin son dönemlerinde
^d2010-2015'de lisans alması bekleniyor

Tangermann RH, Nohynek H, Eggers R. Global control of infectious diseases by vaccination programs In. Schroten H, Wirth S (eds) Pediatric Inf.=Dr.N.Kuyucu'nun «Klinik Gelişim» deki yazısından