Cilt: 5 • **Sayı:** 4 • **Yıl:** 2020 **ISSN:** 2587 - 120X

TÜRK FARMAKOPE DERGİSİ

Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu
Ankara
www.Turkfarmakopedergisi.gov.tr

Sahibi
Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu adına
Doç.Dr. Tolga TOLUNAY

Sorumlu Yazı İşleri Müdürü
Bil.Uzm.Ecz. Mehmet Emre ÖZDEMİRHAN

Baş Editör
Doç.Dr. Tolga TOLUNAY
Uzm.Dr. Elif Hilal VURAL

Editör
Doç.Dr. Evren ALĞIN YAPAR

Yayın Kurulu
Dr. Fahrettin KOCA
Prof.Dr. Emine ALP MEŞE
Doç.Dr. Tolga TOLUNAY
Uzm.Dr. Elif Hilal VURAL
Doç.Dr. Evren ALĞIN YAPAR
Bil.Uzm.Ecz. Mehmet Emre ÖZDEMİRHAN
Dr.Kim.Müh. Fatma ERDEM
Bil.Uzm.Ecz. Fatma Esra HASPOLAT

T.C. Sağlık Bakanlığı
Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu
Ekonomik Değerlendirmeler ve Laboratuvar Hizmetleri Başkan Yardımcılığı
Analiz ve Kontrol Laboratuvarları Dairesi Başkanlığı
Telefon: 0312 565 56 79 • Belgeç: 0312 565 52 57
Elmek: Turkfarmakopedergisi@titck.gov.tr
Genel Ağ: http:/www.Turkfarmakopedergisi.gov.tr

ISSN : 2587- 120X
T.C. Sağlık Bakanlığı Yayın No : 1041
TİTCK Yayın No : 5
1. Baskı - ANKARA
Yayın Türü: Yaygın Süreli Yayın. Yayın Şekli: 3 Aylık - Türkçe.
Kâğıt Türü: Asitsiz.
Kuruluş Tarihi: 04 Mayıs 2016
Yayının İdare Adresi: Söğütözü Mah. 2176. Sok. No:5 06520 Çankaya / ANKARA
Grafik Tasarım/ Basımcı Adı/Adresi: İleri Basım Matbaacılık A.Ş.
Yenibosna Merkez Mh. 29 Ekim Cd. A1 Apt. No:5/902 Bahçelievler-İstanbul
(Vizyonpark 2.Plaza B-1 Blok Kat:9 No:81-82) • Tel: 0212 454 32 55
Basım Miktarı: 600 Adet

BİLİMSEL KURUL

Abdullah OLGUN, Prof.Dr.
Ayhan FİLAZİ, Prof.Dr.
Ayhan SAVAŞER, Prof.Dr.
Ayşe Gülten KANTARCI, Prof.Dr.
Ayşegül DEMİRTAŞ, Bil.Uzm.Ecz.
Ayşegül KARATAŞ, Prof.Dr.
Birsel S. UYDEŞ DOĞAN, Prof.Dr.
Belma GÜMÜŞEL, Prof.Dr.
Benay Can EKE, Prof.Dr.
Bengi USLU, Prof.Dr.
Berna ÖZBEK ÇELİK, Prof.Dr.
Burçin ÇAĞAN, Dr.Ecz.
Bülent GÜMÜŞEL, Prof.Dr.
Canan KARAALP, Prof.Dr.
Çağla BOZKURT GÜZEL, Doç.Dr.
Elif Hilal VURAL, Uzm.Dr.
Emirhan NEMUTLU, Prof.Dr.
Engin KILIÇ, Dr.Öğr.Üyesi
Erdal CEVHER, Prof.Dr.
Erhan PALASKA, Prof.Dr.
Esra AKKOL, Prof.Dr.
Esra BALOĞLU, Prof.Dr.
Evren ALĞIN YAPAR, Doç.Dr.
Evren HOMAN GÖKÇE, Doç.Dr.
Filiz KOÇ, Dr.Bio.
Gökhan CENGİZ, Bil.Uzm.Bio.
Göksel ŞENER, Prof.Dr.
Gül ÖZHAN, Prof.Dr.
Gülçin SALTAN İŞCAN, Prof.Dr.
Gülnur EKŞİ BONA, Dr.Bio.
Hakan DAL, Prof.Dr.
Hakan ERDOĞAN, Dr.Öğr.Üyesi
Hakan EROĞLU, Prof.Dr.
Hakkı GÜRSÖZ, Dr.
Harun KIZILAY, Dr.Ecz.
Hatice Kübra ELÇİOĞLU, Prof.Dr.
İffet İrem TATLI ÇANKAYA, Prof.Dr.
İlhan BOZYİĞİT, Vet.Hek.
İlkay ERDOĞAN ORHAN, Prof.Dr.
İmran VURAL, Prof.Dr.
İsmail Mert VURAL, Doç.Dr.
Makbule AŞIKOĞLU, Prof.Dr.
Meral TUNÇBİLEK, Prof.Dr.
Mesut SANCAR, Prof.Dr.
Murat KARTAL, Prof.Dr.
Müzeyyen DEMİREL, Prof.Dr.
Nafiz Öncü CAN, Prof.Dr.
Nevin ÇELEBİ, Prof.Dr.
Nuray ARI YILDIZOĞLU, Prof.Dr.
Özcan ÖZKAN, Doç.Dr.
Özgen ÖZER, Prof.Dr.
Sema ÇALIŞ, Prof.Dr.
Semra ŞARDAŞ, Prof.Dr.
Sevgi GÜNGÖR, Prof.Dr.
Sibel Ayşıl ÖZKAN, Prof.Dr.
Sinem Yaprak KARAVANA, Doç.Dr.
Sümeyra TUNA YILDIRIM, Dr.Öğr.Üyesi
Tansel ÇOMOĞLU, Prof.Dr.
Temel ÖZEK, Prof.Dr.
Tolga TOLUNAY, Doç.Dr.
Türkan ELDEM, Prof.Dr.
Umut BESKAN, Dr.Kim.
Yalçın ÖZKAN, Prof.Dr.
Yıldız ÖZSOY ERGİNER, Prof.Dr.
Yılmaz ÇAPAN, Prof.Dr.
Yunus YÜCE, Bil.Uzm.Bio.
Yusuf ÖZKAY, Prof.Dr.
Yücel DENER, Kim.

Bu yayın; T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu tarafından hazırlanmış ve bastırılmıştır. Her türlü yayın hakkı, T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumuna aittir. Kaynak gösterilmeksizin alıntı yapılamaz. Kısmen dahi olsa alınamaz, çoğaltılamaz, yayımlanamaz. Ücretsizdir. Parayla satılamaz.

TÜRK FARMAKOPE DERGİSİ YAZIM KURALLARI

1. Türk Farmakope Dergisi, Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'nun yılda dört defa yayımlanan bilimsel yayım organıdır.
2. Türk Farmakope Dergisi, Türk Farmakopesi ve Dünya Farmakopeleri'nde yer alan yöntemler, etken maddeler, bitmiş ürünler, tıbbi cihazlar, kozmetik ürünler ve Eczacılık alanındaki gelişmeleri konu alan araştırma, derleme, teknik doküman editöre mektup türündeki yazıları yayımlar.
3. Türk Farmakope Dergisi, Dergi Yayın Kurulunun yayım kurallarına uymayan yazıları yayımlamama, düzeltilmek üzere yazarına geri verme veya hakemlere inceletme yetkisi vardır. Yayın Kurulu, yazım kurallarına uygunluk sağlamak amacıyla, yayımlanması için gönderilen yazıların gözden geçirilip düzeltilmesini, kısaltılmasını veya yeniden düzenlenmesini isteyebilir.
4. Hazırlanan çalışmalar dergiye iletilmeden önce uygun intihal yazılım programları ile sorumlu yazar tarafından kontrol edilerek makale benzerlik raporu oluşturulmalı ve başvuru ile birlikte sunulmalıdır. Çalışmaların ön değerlendirmeye alınması için çalışmanın tamamında (kaynakça hariç) benzerlik oranı %20'den az olmalıdır.
5. Yayımlanması amacıyla dergiye gönderilen yazılar, yayına kabul edilmeden önce yayın kurulu ve en az iki hakemin incelemesinden geçer. Yayın Kurulu gerek gördüğünde, bilimsel kurul dışındaki bilim insanlarının danışmanlığından yararlanabilir.
6. Yayımlanmak üzere dergiye gönderilen yazıların daha önce başka bir yerde yayımlanmamış, yayımlanmak üzere eş zamanlı olarak başka bir dergiye gönderilmemiş olması gereklidir. Bilimsel Kongrelerde yapılan sunumlar, bu durum belirtilerek yayımlanabilir.
7. Yazı dili Türkçe'dir. Yazılar Türk Dil Kurumu tarafından belirlenen dil bilgisi ve yazım kurallarına uygun olmalıdır. Türkçe yazılardaki terimler öz Türkçe veya Latince olmalı, gereksiz, sık ve yerleşik olmayan kısaltmalardan kaçınılmalı, kaynaklarda güncel kaynaklardan faydalanılmalıdır.
8. Yazar/Yazarlar, yazı hazırlama aşamasında Türk Farmakope Dergisi`nin önceki sayılarından ilgili makalelere atıfta bulunmalıdır.
9. Hazırlama talebinde bulunulan milli monografların, beraberinde monograf hazırlamada yürütülen çalışmaları ve elde edilen bilimsel değerleri içeren araştırma makaleleri ile dergiye birlikte başvurusu beklenmektedir.
10. Yayımlanması için gönderilen yazılarda tüm yazarların imzalı onayını gösteren "Telif Hakkı Devri" formu doldurularak Turkfarmakopedergisi@titck.gov.tr adresine çevrimiçi olarak gönderilmelidir.
11. Türk Farmakope Dergisi'nde yayıma kabul edilen ve yayımlanan tüm yazıların içerikleri, yazarların görüşlerini yansıtır, çalışmaların etik kurallara uygunluğu ve bilimsel içeriği yazarların sorumluluğundadır ve hiçbir şekilde Dergi ve Yayın Kurulu sorumlu değildir. Eğer makalede daha önce yayımlanmış; alıntı yazı, tablo, resim vs. mevcut ise makale yazarı, yayın hakkı sahibi ve yazarlarından yazılı izin almak ve bunu makalede belirtmek zorundadır.
12. Yazılar, kenarlardan 3'er cm boşluk kalacak şekilde ve sayfaya yaslanarak, 11 birim büyüklüğünde, "Arial" karakteri ile 1.5 satır aralıklı, paragraflar arası 6 nk aralık bırakılarak "Microsoft Word" programı ile yazılıp Turkfarmakopedergisi@titck.gov.tr adresine çevrimiçi olarak gönderilmelidir. Gönderilen yazılar, yayına kabul edilsin veya edilmesin iade edilmez.

13. Gönderilen yazılar, birinci sayfadan itibaren sağ üst köşede sayfa numarası verilerek, aşağıda belirtilen bölümler halinde hazırlanmalıdır.

a. Başlık sayfası: Sırasıyla yazının başlığı büyük yazı karakterinde ve kırmızı olacak şekilde sola hizalı yazılmalıdır. Alt satırda Yazarların isimleri (meslek unvanı kullanılmadan) yan yana sıralanarak yazarların soyadından sonra üst simge ile numaralandırma yapılmalıdır (1, 2, 3 vb.). Sorumlu yazar, soyadından sonra "*" simgesi ile belirtilmelidir. Alt satırlarda sıra ile yazarlara ait çalışmanın yürütüldüğü yer (anabilim dalı, kurum, üniversite vb.), cadde/sokak adı, posta kodu, ilçe-şehir bilgileri yer almalıdır. Sadece sorumlu yazarın elmek adresi adres satırının altında verilmelidir. Yazı daha önce bir kongrede sunuldu ise kongre ismi, yeri ve tarihi sorumlu yazarın elmek adresinden önceki satırda belirtilmelidir.

b. Türkçe özet ve anahtar kelimeler: Çalışmanın tamamının anlaşılmasını sağlayacak şekilde ve tek paragraf halinde, çalışmanın türü, amacı, gereç ve yöntemi, bulguları, tartışma ve sonuçları, 200 kelimeyi geçmeden ve alt başlıklar kullanılmadan özetlenmelidir. Özet içinde, ölçümler dışında kısaltmalar kullanılmamalıdır. Özetin altındaki paragrafta, içerik ve bilgisayar programlarına uygun, çalışmanın özü, özeti ile uyumlu ve en fazla beş adet anahtar kelime verilmelidir. Anahtar kelimeler Türkiye Bilim Terimleri arasından (www.bilimterimleri.com) seçilmelidir.

c. İngilizce başlık, özet ve anahtar kelimeler: Türkçe anahtar kelimelerden sonraki alt satıra Türkçe Makale Başlığıyla uyumlu İngilizce başlık büyük yazı karakterinde ve kırmızı olacak şekilde sola hizalı olarak verilmelidir. İngilizce özet (Abstract) Türkçe özette verilen metnin İngilizceye uyumlu şekilde çevrilmesiyle oluşturulmalıdır. Bu özet de 200 kelimeyi geçmemeli ve altındaki satırda "Index Medicus" veri tabanına uygun en fazla beş adet anahtar kelime (Keywords) içermelidir.

d. Makale ana başlıkları "Arial" karakterinde, koyu, 11 punto, sola hizalı olacak şekilde kırmızı renkli ve numaralı olarak eklenmelidir. Ana başlıkların tamamı, birinci alt başlıklarda bütün kelimelerin ilk harfi, ikinci alt başlıklarda yalnız birinci kelimenin ilk harfi büyük harflerle, ana başlıkta ve alt başlıktaki "ve", "ile" gibi bağlaçlar tamamen küçük harflerle yazılmalıdır. Birinci ve ikinci tüm alt başlıklar siyah ve koyu yazılmalıdır. Alt başlıklar ile bir önceki paragraf arasında bir satır boşluk olmalı, alt başlıkların altındaki paragraf ile arasında boş satır konmamalıdır.

e. Teşekkür: Yazının hazırlanmasında dolaylı katkıları olanların katkılarını açıklayan ve onlara teşekkür ifade eden sade cümleler kullanılmalıdır.

f. Kaynakça: Kişisel görüşmeler veya yayınlanmamış veriler, kaynak olarak gösterilemez. Çok gerekli ise, metin içinde bahsedilebilir. Dergilerin isimleri, Index Medicus'da belirtilen şekilde kısaltılmalıdır. Metin içindeki kaynak göstermelerde numaralandırma sistemi geçerlidir. Kaynak numaraları ile ilgili cümle sonunda köşeli parantez kullanılarak [1], [3], [5] vb. rakamlarla numaralandırma yapılmalı ve metin sonunda "Kaynakça" kısmında metin içerisinden kullanılma sırasına uygun olarak numaralandırılmalıdır. Metin içinde atıf yapılan her kaynağa Kaynakçada yer verilmeli, Kaynakçada yer verilen her kaynağa da metin içinde atıf yapılmalıdır. Kaynak sayısı 100 adedi geçmemelidir.

Kaynakların yazımı için örnekler:

<u>Makale için:</u>

Tekdemir O, Özsoy Y. Veteriner alanda kullanılan modifiye salımlı dozaj şekilleri. Türk Farmakope Dergisi. 2020; 5(2): 25-36.

Yazar sayısı altının üzerinde olan makaleler için, ilk altı yazarın isimleri belirtilir ve altıncı yazardan sonra "ve ark. (et al.)" ifadesi eklenir.

Kitaptan bir bölüm için:

Yesilada E. Evidence-Based Evaluation of Turkish Folk Remedies for Wound Healing Potential. In Mukherjee PK. (ed.). Traditional Medicine and Globalization- The Future of Ancient Systems of Medicine Maven Publishers, 2014: 698 pp. Chapter 20. pp.31-45 [ISBN 978-819-26-2430-3].

Şenel S, Vural İ. Farmasötik Su. In: Zırh Gürsoy A (ed). Farmasötik Teknoloji. 2inci baskı. İstanbul: Aktif Matbaa ve Reklam Hizmetleri San. Tic. Ltd. Şti, 2012: 137-146. [ISBN 975-97725-1-5].

Tek yazarlı bir kitaptan alınan bölüm için:

Praat RTC. The Genetics of Neurological Disorders. London: Oxford University Press, 1967: 173-174.

Kongre bildirileri için:

Sarıcı SÜ, Dabak O, Erdinç K, Okutan V, Lenk MK. İntravenöz ibuprofenin bildirilmemiş bir komplikasyonu: gastrointestinal kanama. 18. Ulusal Neonatoloji Kongresi, 21-24 Nisan 2010, Bodrum. Kongre Özet Kitabı, 329-330.

Basılmış tez için:

Kurt M. Eczacılık fakültelerinde farmakoekonomi eğitimi ve öğrencilerin farmakoekonomi ile ilgili bilgi düzeyleri. Yüksek Lisans Tezi, Yeditepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2012.

Genel Ağ adresleri için:

Webber S. (2008, 10 Ekim). Information literacy in work place contexts. 22 Ekim 2008 tarihinde http://information-literacy.blogspot.com/ adresinden erişildi.

14. Tablolar: Makale içinde geçiş sırasına göre Arabik rakamlar ile numaralanmalı, tabloların her biri ayrı bir sayfaya ve başlıkları tablo üzerinde olacak şekilde yazılmalıdır. Tablo açıklamalarının yazımında da “blok” sistemi korunmalı; açıklamaların bir satırdan daha uzun olması halinde, ikinci ve diğer satırlar, açıklamanın satır başı hizasından başlamalıdır. Tablo içeriği “Arial” karakterinde 8-10 punto ile yazılmalıdır. Tablo başlıklarında “Tablo 1.” kısmı kalın olarak, diğer kısımları normal tonda, sola dayalı ve küçük harflerle yazılmalıdır. Metin içinde tabloların geçtiği yer, en uygun yerde parantez içinde belirtilmelidir. Bir sayfadan daha büyük olan tablolar, metin içinde bulunmak zorunda ise bir sayfa boyutlarında (uygun bir yerden) bölünmelidir. Tablonun devamı bir sonraki sayfada aynı tablo numarasıyla ve aynı başlıkla verilmeli ancak tablo numarasından sonra parantez içinde “Devam” ibaresi yazılmalıdır.

15. Şekil, resim ve fotoğraflar: Makale içinde geçiş sırasına göre, Arabik rakamlar ile numaralandırılmalı, şekil ve resimlerin yerleri, metin içinde en uygun yerde parantez içinde belirtilmelidir. Şekil başlıklarında “Şekil 1.” Kısmı kalın olarak, diğer kısımlar normal tonda ve küçük harflerle sola dayalı yazılmalıdır. Şekil, resim ve fotoğraflar en az 600 dpi grafik çözünürlükte olmalı ve jpg, tiff, gif vb. formatta bulunmalıdır.

16. Eşitlik yazımı: Metin içindeki eşitlikler Eş.1, Eş.2 şeklinde verilmelidir. Eşitlik numaralandırmaları eşitliğin devamı satır sonunda parantez içerisinde sıralı olarak verilmelidir.

17. Metin içinde geçen küsuratlı sayıların yazımında Türk Farmakopesi yazım şablonuna uygun olarak nokta “.” işareti kullanılmalıdır.

18. Türk Farmakope Dergisi'nin kısaltması "TFD", İngilizce adı "Turkish Pharmacopoeia Journal" ve İngilizce kısaltması "TPJ" şeklindedir.

İÇİNDEKİLER

Cilt: 5 • Sayı: 4 • Yıl: 2020

Yönetici Yazısı
Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu Başkanı
Doç.Dr. Tolga TOLUNAY
9

Milli Monografler

Çam (Fıstık Çamı) Uçucu Yağı
Umbrella Pine Essential Oil
Pini pineae aetheroleum
Ece SEVGİ, Betül BÜYÜKKILIÇ-ALTINBAŞAK, Nihal ZORLU, Kevser SALİHLER, Çağla KIZILARSLAN-HANÇER, Murat KARTAL, Gülaçtı TOPÇU
10-13

Çam (Kızılçam) Uçucu Yağı
Turkish Red Pine Essential Oil
Pini brutiae aetheroleum
Nihal ZORLU, Betül BÜYÜKKILIÇ-ALTINBAŞAK, Ece SEVGİ, Kevser SALİHLER, Çağla KIZILARSLAN-HANÇER, Murat KARTAL, Gülaçtı TOPÇU
14-18

Derleme Makaleleri

Kuduz Aşısının Güncel Kalite Kontrol Gereklilikleri
Current Quality Control Requirements of Rabbies Vaccine
İlhan BOZYİĞİT, Mehmet Emre ÖZDEMİRHAN, Evren ALĞIN YAPAR
19-34

Bacillus Calmette-Guerin Aşısının Güncel Kalite Kontrol Gereklilikleri
Current Quality Control Requirements of Bacillus Calmette-Guerin Vaccine
İlhan BOZYİĞİT, F.Fulya PİRLEPE KATILI, Mehmet Emre ÖZDEMİRHAN, Evren ALĞIN YAPAR
35-44

Kızamık Aşısının Güncel Kalite Kontrol Gereklilikleri
Current Quality Control Requirements of Measles Vaccine
İlhan BOZYİĞİT, Safiye KARAGÖZLÜ, Mehmet Emre ÖZDEMİRHAN, Evren ALĞIN YAPAR
45-57

Kızamıkçık Aşısının Güncel Kalite Kontrol Gereklilikleri
Current Quality Control Requirements of Rubella Vaccine
İlhan BOZYİĞİT, Safiye KARAGÖZLÜ, Mehmet Emre ÖZDEMİRHAN, Evren ALĞIN YAPAR
58-71

Tıbbi Yüz Maskeleri ve Güncel Kalite Kontrol Gereklilikleri
Medical Face Masks and Current Quality Control Requirements
Gökhan CENGİZ, Ferat ŞAHİN, Evren ALĞIN YAPAR
72-78

Sedef Hastalığı ve Tedavisinde Kullanılan İlaçlara Genel Bir Bakış
A General Overview on Psoriasis and Medicines Used in Its Treatment
Mustafa Eren SÖNMEZ, Oktay EROĞLU, Sümeyra TUNA YILDIRIM
79-94

Demir Elementinin Hastalıkların Oluşumu ve Tedavisindeki Önemi
The Role of Iron in The Epidemiology and Treatment of Diseases
Ferit OKTAY, Reyhan Sena GÜĞERÇİN, Sümeyra TUNA YILDIRIM
95-108

Türk Farmakope Dergisi 2020, 5(4): 9

© Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu 2020

TÜRK FARMAKOPE DERGİSİ

Doç.Dr. Tolga TOLUNAY
Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu Başkanı

Türk Farmakopesi ve diğer uluslararası farmakopelerin faaliyetleri ile Kurumumuz görev alanı ve farmakope kapsamında gerçekleştirilen bilimsel ve teknik çalışmaların değerlendirilmesi amacıyla hayata geçen Türk Farmakope Dergisi; Ülkemiz sağlık endüstrisi, üniversitelerimiz, sendikalar, dernekler, ilgili kurum ve kuruluşları bilgilendirmek ve tüm paydaşlarla bilgi alışverişinde köprü oluşturmak üzere yapılan bir çalışmadır.

Türk Farmakope Dergisi 5. Cilt 4. Sayısı içeriğinde; Türk Farmakopesi'nde de yer alması planlanan yeni milli monografler Çam (Kızılçam) uçucu yağı (*Pini brutiae aetheroleum*) ve Çam (Fıstık Çamı) uçucu yağı (*Pini pineae aetheroleum*), biyolojik ürünlerin kalite gereklilikleri kapsamında Kuduz Aşısı, Bacillus Calmette-Guerin (BCG) Aşısı, Kızamık Aşısı ve Kızamıkçık Aşısının güncel kalite kontrol gereklilikleri, tıbbi cihazlar kapsamında tıbbi yüz maskelerinin güncel kalite kontrol gereklilikleri ile sedef hastalığı ve demir elementine bağlı hastalıkların tedavisinde kullanılan ilaçlara değinilen makalelere yer verilmiştir.

Dergimiz yayın kuruluna, bilim kuruluna, yazarlara ve makale hakemlerine teşekkürlerimi ileterek dergimizin yeni sayısının yararlı olmasını diliyorum.

T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE İLAÇ VE TIBBİ CİHAZ KURUMU

MİLLİ MONOGRAF

Türk Farmakope Dergisi 2020, 5(4): 10-13

© Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu 2020

ÇAM (FISTIK ÇAMI) UÇUCU YAĞI

Ece SEVGİ[1]*, Betül BÜYÜKKILIÇ-ALTINBAŞAK[1], Nihal ZORLU[2], Kevser SALİHLER[2], Çağla KIZILARSLAN-HANÇER[1], Murat KARTAL[2,3], Gülaçtı TOPÇU[3]

1. Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Botanik ABD, Adnan Menderes Bulvarı, 34093, Fatih-İstanbul.

   elmek*: esevgi@bezmialem.edu.tr

2. Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Fitoterapi Eğitim, Uygulama ve Araştırma Merkezi (BİTEM), Bican Bağcıoğlu Yokuşu, Adnan Menderes Bulvarı, 34093, Fatih-İstanbul.

3. Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi ABD, Adnan Menderes Bulvarı, 34093, Fatih-İstanbul.

Geliş tarihi: 16.10.2020 / Kabul tarihi: 17.11.2020

TFB-01/2020:XXXXX

ÇAM (FISTIK ÇAMI) UÇUCU YAĞI

UMBRELLA PINE ESSENTIAL OIL

Pini pineae aetheroleum

TANIM

Pinus pinea L. bitkisinin parçalanmış taze yapraklarından buhar distilasyonu ile elde edilen uçucu yağ.

ÖZELLİKLER

Görünüm: şeffaf ya da sarımsı, akışkan, berrak ve karakteristik kokulu bir sıvıdır.

TANIMA

İlk tanıma: A.

İkinci tanıma: B.

A. İnce tabaka kromatografisi (*2.2.27*).

   Test çözeltisi: 100 µL fıstık çamı uçucu yağı örneği 1 mL *toluen R* içinde çözülür.

Şahit çözelti: 10 µL *limonen R* 1 mL *toluen R* içinde çözülür.

Plak: İTK *silikajel 60 F_{254} plak R*.

Hareketli faz: *etil asetat R, toluen R* (3:97 *h/h*).

Uygulama: 10 µL test çözeltisi ve şahit çözelti, tek nokta halinde.

Sürüklenme: 6 cm'nin üzerinde bir ilerleme.

Kurutma: havada.

Tespit: %1'lik *vanilin çözeltisi R* ve %10'luk *sülfürik asit R* çözeltisi püskürtülür, 100-105°C'de 5-10 dk. ısıtılır, gün ışığında incelenir.

Sonuçlar: şahit çözelti ve test çözeltisi ile elde edilen kromatogramdaki lekeler aşağıda görüldüğü gibi sıralanmıştır.

Plağın üstü	
Limonen: Mor bir leke	Mor bir leke
Mavimsi yeşil bir leke	Mavimsi yeşil bir leke
Bir grup mavimsi leke	Bir grup mavimsi leke
	Kahverengi bir leke
Şahit çözelti	**Test çözeltisi**

B. Gaz kromatografisi (*2.2.28*).

Test çözeltisi ile elde edilen kromatogram ile şahit olarak verilen kromatogram benzerlik göstermelidir (Şekil 1).

TESTLER

Bağıl yoğunluk (*2.2.5*): 0.840.

Asit değeri (*2.5.1*): en fazla 1.0.

Kırılım imleci (*2.2.6*): 1.4785.

Optik çevirme (*2.2.7*): -60.28°. Oda sıcaklığında, hekzan.

Sabit yağlar ve reçineleşmiş uçucu yağlar (*2.8.7*): test ile uyumludur.

Kromatografik görünüm. Gaz kromatografisi (*2.2.28*) ile değerlendirilir.

Test çözeltisi. İncelenecek numunenin 200 µL'si *heptan R* ile 10 mL hacme seyreltilir.

Şahit çözelti: 5 µL *α-pinen R,* 5 µL *β-pinen R,* 5 µL *β-mirsen R*, 5 µL *limonen R*, 5 mg *β-fellandren R*, 5 mg *α-terpinolen R*, 5 mg *β-karyofilen R*, 5 mg *α-terpineol R*, 5 mg *germakren D R*, 5 µL *β-kadinen R*, 5 µL *longipinen R,* 5 µL *longifolen R,* 5 µL *linalol R* 10 mL hacme *heptan R* ile seyreltilir.

Kolon:

- *malzeme*: kaynaşmış silika;
- *boyut*: ℓ = 60 m, Ø = 0.25 mm, film kalınlığı = 0.25 µm;
- *sabit faz*: polietilen glikol (ortalama moleküler ağırlık 18 000).

Taşıyıcı gaz: *kromatografik helyum R*.

Akış hızı: 1.5 mL/dk.

Sıcaklık:

	Zaman (dk.)	Sıcaklık (ºC)
Kolon	0-15	70
	15-85	70 → 230
	85-100	180
Enjeksiyon yuvası		250
Dedektör		220

Tespit: alevli iyonlaştırma.

- *hidrojen gaz akışı*: 30 mL/dk.
- *kuru hava gaz akışı*: 400 mL/dk.
- *enjeksiyon hacmi*: 1 µL.
- *ayrılma oranı*: 1/100.

Ayırım sırası: şahit çözeltinin bileşiminde görülen sıradadır.

Sistem uygunluğu: şahit çözelti.

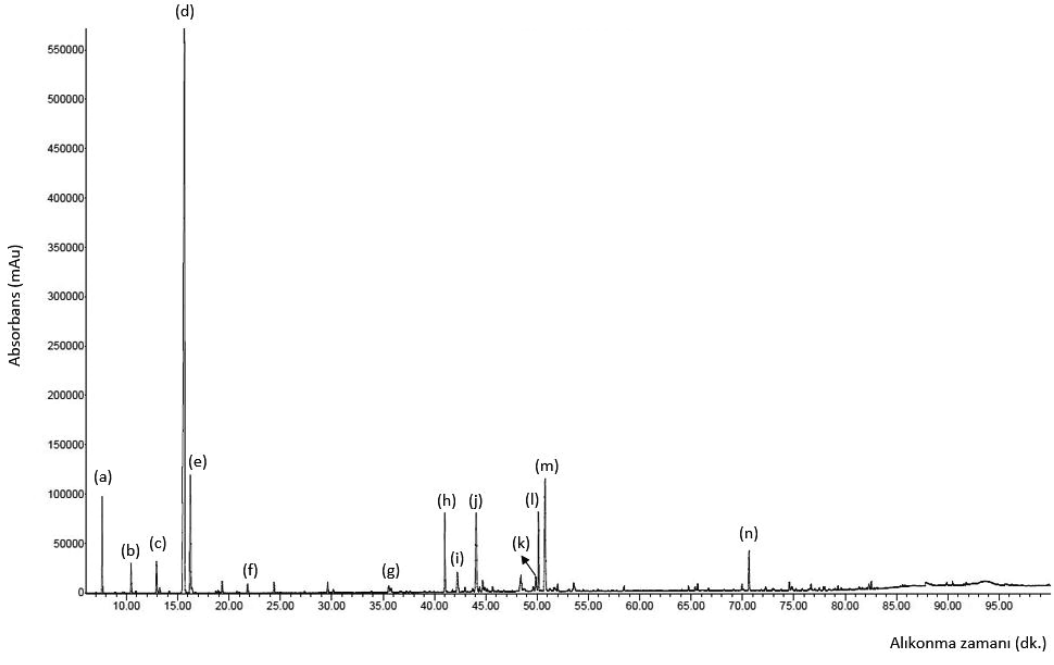
- *ayırım gücü*: *α-pinen* ve *β-pinen* pikleri arasında en az 0.5 dk.

Aşağıda listelenen her bir bileşenin yüzde içeriği belirlenir. Yüzdeler belirtilen aralıktadır:

- *α-pinen*: en az %2.5;
- *β-pinen*: %1.0 - 5.0;
- *β-mirsen*: %1.0 - 3.0;
- *limonen*: %40.0 - 60.0;
- *β-fellandren*: %5.0 - 14.0;
- *α-terpinolen*: en fazla %1.0;
- *β-karyofilen*: en fazla %8.0;
- *α-terpineol*: %1.0 - 5.0;
- *germakren D*: en fazla %9.0;
- *β-kadinen*: en fazla %2.0;
- *α-longipinen*: en az %1.0;
- *longifolen*: en az %2.0;
- *linalol*: %0.5 - 4.0;
- *guaiol*: en az %2.0.

SAKLAMA

Işıktan koruyarak 25 ºC'yi aşmayan sıcaklıkta saklanır.



Şekil 1. Fıstık çamı uçucu yağı alev iyonlaşmalı gaz kromatografisi (GC-FID) kromatogramı
(a) α-pinen (b) β-pinen (c) β-mirsen (d) limonen (e) β-fellandren (f) *α*-terpinolen (g) α-longipinen (h) linalol (i) longifolen (j) karyofilen (k) β-kadinen (l) α-terpineol (m) germakren D (n) guaiol.

T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE İLAÇ VE TIBBİ CİHAZ KURUMU

MİLLİ MONOGRAF

Türk Farmakope Dergisi 2020, 5(4): 14-18
© Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu 2020

ÇAM (KIZILÇAM) UÇUCU YAĞI

Nihal ZORLU[1], Betül BÜYÜKKILIÇ-ALTINBAŞAK[2], Ece SEVGİ[2]*, Kevser SALİHLER[1], Çağla KIZILARSLAN-HANÇER[2], Murat KARTAL[1,3], Gülaçtı TOPÇU[3]

1. Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Fitoterapi Eğitim, Uygulama ve Araştırma Merkezi (BİTEM), Bican Bağcıoğlu Yokuşu, Adnan Menderes Bulvarı, 34093, Fatih-İstanbul.
2. Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Botanik ABD, Adnan Menderes Bulvarı, 34093, Fatih-İstanbul.

   elmek*: esevgi@bezmialem.edu.tr
3. Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi ABD, Adnan Menderes Bulvarı, 34093, Fatih-İstanbul.

Geliş tarihi: 16.10.2020 / Kabul tarihi: 18.11.2020

TFB-01/2020:XXXXX

ÇAM (KIZILÇAM) UÇUCU YAĞI

TURKISH RED PINE ESSENTIAL OIL

Pini brutiae aetheroleum

TANIM

Pinus brutia Ten. bitkisinin parçalanmış taze yapraklarından buhar distilasyonu ile elde edilen uçucu yağ.

ÖZELLİKLER

Görünüm: şeffaf ya da sarımsı, akışkan, berrak ve karakteristik kokulu bir sıvıdır.

TANIMA

İlk tanıma: A.

İkinci tanıma: B.

A. İnce tabaka kromatografisi (*2.2.27*).

Test çözeltisi: 100 µL kızılçam uçucu yağı örneği 1 mL *toluen R* içinde çözülür.

Şahit çözelti: 10 µL *limonen R* 1 mL *toluen R* içinde çözülür.

Plak: İTK *silikajel 60* F_{254} *plak R*.

Hareketli faz: *etil asetat R, toluen R* (3:97 *h/h*).

Uygulama: 10 µL test çözeltisi ve şahit çözelti, tek nokta halinde.

Sürüklenme: 6 cm'nin üzerinde bir ilerleme.

Kurutma: havada.

Tespit: %1'lik *vanilin çözeltisi R* ve %10'luk *sülfürik asit R* çözeltisi püskürtülür, 100-105°C'de 5-10 dk. ısıtılır, gün ışığında incelenir.

Sonuçlar: şahit çözelti ve test çözeltisi ile elde edilen kromatogramdaki lekeler aşağıda görüldüğü gibi sıralanmıştır.

Plağın üstü	
	Kahverengi bir leke
Limonen: Mor bir leke	Mor bir leke
Mavimsi yeşil bir leke	Mavimsi yeşil bir leke
Bir grup mavimsi leke	Bir grup mavimsi leke
Şahit çözelti	**Test çözeltisi**

B. Gaz kromatografisi (*2.2.28*).

Test çözeltisi ile elde edilen kromatogram ile şahit olarak verilen kromatogram benzerlik göstermelidir (Şekil 1).

TESTLER

Bağıl yoğunluk (*2.2.5*): 0.844 - 0.860.

Asit değeri (*2.5.1*): en fazla 1.0.

Kırılım imleci (*2.2.6*): 1.4776 – 1.4788.

Optik çevirme (*2.2.7*): (-38.10°) – (-41.43°). Oda sıcaklığında, hekzan.

Sabit yağlar ve reçineleşmiş uçucu yağlar (*2.8.7*): test ile uyumludur.

Kromatografik görünüm. Gaz kromatografisi (*2.2.28*) ile değerlendirilir.

Test çözeltisi. İncelenecek numunenin 200 µL'si *heptan R* ile 10 mL hacme seyreltilir.

Şahit çözelti: 5 µL *α-pinen R,* 5 mg *kamfen R*, 5 µL *β-pinen R,* 5 µL δ-*3-karen R,* 5 µL *β-mirsen R*, 5 µL *limonen R*, 5 mg *β-fellandren R*, 5 mg *α-terpinolen R*, 5 mg *β-karyofilen R*, 5 mg *trans-pinokarveol R*, 5 µL *α-humulen R*, 5 mg *α-terpineol R*, 5 mg *germakren D R*, 10 mL hacme *heptan R* ile seyreltilir.

Kolon:

- *malzeme*: kaynaşmış silika;
- *boyut*: ℓ = 60 m, Ø = 0.25 mm, film kalınlığı = 0.25 µm;
- *sabit faz*: polietilen glikol (ortalama moleküler ağırlık 18 000).

Taşıyıcı gaz: *kromatografik helyum R*.

Akış hızı: 1.5 mL/dk.

Sıcaklık:

	Zaman (dk.)	Sıcaklık (ºC)
Kolon	0-15	70
	15-85	70 → 230
	85-100	180
Enjeksiyon yuvası		250
Dedektör		220

Tespit: alevli iyonlaştırma.

- *hidrojen gaz akışı*: 30 mL/dk.
- *kuru hava gaz akışı*: 400 mL/dk.

- *enjeksiyon hacmi*: 1 µL.
- *ayrılma oranı*: 1/100.

Ayırım sırası: şahit çözeltinin bileşimindeki sıraydadır.

Sistem uygunluğu: şahit çözelti.

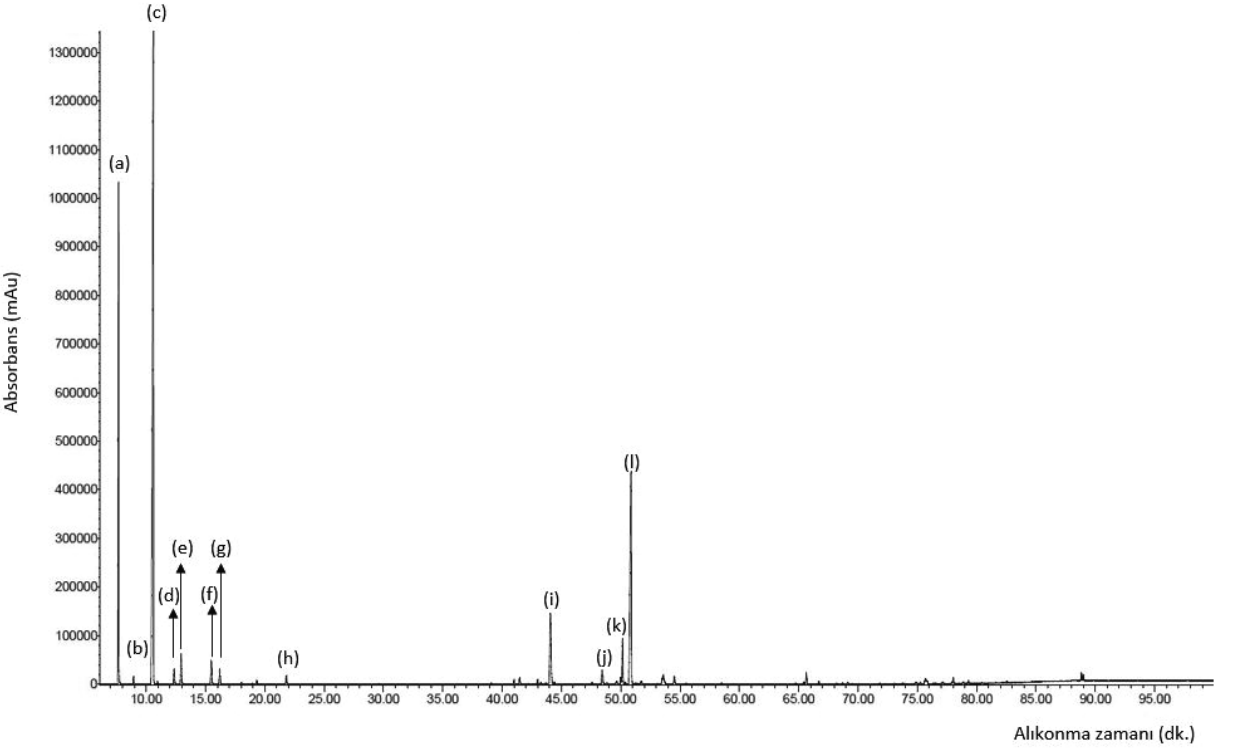
- *ayırım gücü*: *α-pinen* ve *kamfen* pikleri arasında en az 0.5 dk.

Aşağıda listelenen her bir bileşenin yüzde içeriği belirlenir. Yüzdeler belirtilen aralıktadır:

- *α-pinen*: %14.0 - 35.0;
- *kamfen*: en fazla %1.0;
- *β-pinen*: %30.0 - 50.0;
- *δ-3-karen*: en fazla %2.5;
- *β-mirsen*: %1.0 - 3.0;
- *limonen*: %1.0 - 4.0;
- *β-fellandren*: en fazla %3.0;
- *α-terpinolen*: en fazla %1.0;
- *β-karyofilen*: %5.0 - 10.0;
- *trans-pinokarveol*: en fazla %2.0;
- *α-humulen*: %1.0 - 3.0;
- *α-terpineol*: en fazla %3.0;
- *germakren D*: %10.0 - 20.0.

SAKLAMA

Işıktan koruyarak 25 °C'yi aşmayan sıcaklıkta saklanır.



Şekil 1. Kızılçam uçucu yağı alev iyonlaşmalı gaz kromatografisi (GC-FID) kromatogramı
(a) α-pinen (b) kamfen (c) β-pinen (d) δ-3-karen (e) β-mirsen (f) limonen (g) β-fellandren (h) α-terpinolen (i) β-karyofilen (j) α-humulen (k) *α*-terpineol (l) germakren D.

T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE İLAÇ VE TIBBİ CİHAZ KURUMU

DERLEME MAKALESİ

Türk Farmakope Dergisi 2020, 5(4): 19-34

© Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu 2020

KUDUZ AŞISININ GÜNCEL KALİTE KONTROL GEREKLİLİKLERİ

İlhan BOZYİĞİT, Mehmet Emre ÖZDEMİRHAN, Evren ALĞIN YAPAR*

T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, Analiz ve Kontrol Laboratuvarları Dairesi Başkanlığı, 06430, Sıhhiye-Ankara.

elmek*: evren.yapar@yahoo.com

Geliş tarihi: 02.10.2020 / Kabul tarihi: 26.11.2020

ÖZET

Kuduz, zoonotik, akut ve viral bir ensefalomiyelittir. Sıcakkanlı hayvanlar kuduz virüsü ile enfekte olabilir ancak virüse karşı hassasiyetleri ve bulaştırma riski türler arasında farklılık gösterir. Etkeni ve patogenezi bir asırdır bilinmesine rağmen kuduz hala öldürücü bir hastalıktır. İnsanda kuduz virüsü ile temas sonrası profilaksi koruyucu olabilmektedir. Kuduz, aşı ile önlenebilir bir hastalıktır. İnsanlar genellikle kuduzlu bir hayvandan derin bir ısırık veya çizilmenin ardından enfekte olabilmekte ve kuduz virüsüne maruz kaldıktan hemen sonra tedaviye başlamak, semptomların başlamasını ve ölümü etkili bir şekilde önleyebilmektedir. Beşeri kullanım için kuduz aşısı üretimi (başlangıç materyallerinin kabulünden bitmiş ürün sevkiyatına kadar) pilot üretimi de kapsayacak şekilde kalite yönetim sistemi gözetim ve denetiminde İyi İmalat Uygulamalarına göre yapılmalıdır. Üretim ve kontrol alanlarındaki tüm personelin kuduza karşı aşılanması ve bağışıklığının takibi önemlidir. Kuduz aşıları insan diploit hücrelerinde, sürekli hücre hatlarında, primer hamster böbrek hücrelerinde, primer civciv embriyo fibroblast hücrelerinde ve embriyolu ördek/tavuk yumurtası gibi substratlarda üretilebilir. Hücre kültürlerinin kontrolü, kuduz virüs inaktivasyonu, final bulk ve bitmiş ürünün hazırlanması, ürünün stabilitesi, güvenliliği ve etkililiği kuduz aşısının hazırlanma ve kalite kontrolü açısından kritik basamaklar olup Dünya Sağlık Örgütü başta olmak üzere ilgili rehber dokümanlar ve yasal düzenlemelere göre yürütülmeli ve değerlendirilmelidir. Bu derlemede kuduz hastalığı, kuduz aşısı ve kalite kontrol gerekliliklerine güncel genel bir bakış sunulmaktadır.

Anahtar kelimeler: Kuduz, Kuduz aşısı, Kalite kontrol testleri, Farmakope, DSÖ.

CURRENT QUALITY CONTROL REQUIREMENTS OF RABBIES VACCINE

ABSTRACT

Rabies is a zoonotic, acute and viral encephalomyelitis. Warm-blooded animals can be infected with the rabies virus, but their susceptibility and risk of transmitting the virus varies between species. Although its agent and pathogenesis have been known for a century, rabies is still a fatal disease. After contact with rabies virus in humans, prophylaxis can be protective. Rabies is a vaccine preventable disease. People can often become infected after a deep bite or scratch from a rabid animal, and starting treatment immediately after exposure to the rabies virus can effectively prevent the onset of symptoms and death. Production of rabies vaccine for human use (from acceptance of starting materials to finished product shipment) should be carried out in accordance with Good Manufacturing Practices under quality management system supervision and control, including pilot production. It is important to vaccinate all personnel in production and control areas against rabies and monitor their immunity. Rabies vaccines can be produced in human diploid cells, continuous cell lines, primary hamster kidney cells, primary chick embryo fibroblast cells and substrates such as embryonic duck / chicken eggs. Control of cell cultures, rabies virus inactivation, preparation of final bulk and finished product, product stability, safety and efficacy are critical steps in the preparation and quality control of rabies vaccine, and should be carried out and evaluated in accordance with the relevant guiding documents and legal regulations, especially the World Health Organization. This review provides a current overview of rabies disease, rabies vaccine, and quality control requirements.

Keywords: Rabies, Rabies vaccine, Quality control tests, Pharmacopoeia, WHO.

GİRİŞ

Kuduz

Kuduz, *Rhabdoviridae* ailesi, *Lyssavirüs* genusundan nörotrop bir RNA virüsü ile oluşan zoonotik, akut, ilerleyici viral bir ensefalomyelittir [1]. Virüs dış ortam koşullarına dayanıksızdır. Zarflı virüs oldukları için lipit eriticilerin çoğuna duyarlıdır [2]. Sıcakkanlı hayvanlar kuduz virüsü ile enfekte olabilir ancak virüse karşı hassasiyetleri ve bulaştırma riski türler arasında farklılık gösterir. Aynı zamanda temas sonrası bulaştırma riski açısından da türler arasında fark bulunmaktadır. Hastalığın gelişme riski yüzeyel bir yaranın enfeksiyöz salya ile temasında düşükken, enfekte bir kurt tarafından baş boyun bölgesinden ısırılmada yaklaşık olarak %100'dür. Kuduz bir hayvanın enfeksiyöz salyası ile ısırılma ve hatta sağlam mukoza yolu ile temas, yaklaşık olarak %30-40 oranında enfeksiyonla sonuçlanır. Etkeni ve patogenezi yaklaşık yüz yıl önce belirlenmiş olmasına rağmen kuduz, bugün için de öldürücü bir hastalıktır. İnsanda kuduz virüsünün yara yerine inokülasyonundan sonra santral sinir sistemine ulaşması günlerce veya haftalarca sürebilir.

Bu nedenle, temas sonrası profilaksi koruyucu olabilmektedir. Virüs, yara yerine komşu kas hücrelerinde replike olduktan sonra asetil kolin reseptörleri aracılığı ile periferik sinirlere girer ve hastalığın durdurulması mümkün olmaz. Santral sinir sistemine ulaştıktan sonra virüs ters yönde yayılmaya başlar ve özellikle tükürük bezleri olmak üzere dokulardaki sinirlerde replikasyona başlar, virüsün tükürükte atılımı ile enfeksiyonun bulaşma halkası tamamlanmış olur. Kuduzun insanda klinik tablosu pek çok yönü ile diğer ensefalitlerden farklılık gösterir ve beş dönemde incelenebilir. Bu dönemler sırasıyla; inkübasyon, prodrom, akut nörolojik, koma ve ölümdür. Akut nörolojik dönemde klinik tablo iki değişik formda gelişebilir, ensefalitik (saldırgan) ve paralitik (felç) kuduz olarak adlandırılır [1,3,4].

Her yıl dünya çapında 29 milyondan fazla kişiye ısırılma sonrası aşı yapıldığı bu sayede her yıl yüz binlerce kuduz kaynaklı ölümün önlediği tahmin edilmektedir. Kuduz, aşı ile önlenebilir bir hastalıktır. Köpeklerin aşılanmasının insanlarda kuduzun önlenmesi için en uygun maliyetli strateji olduğu belirtilmekle beraber hem çocuklar hem de yetişkinler için farkındalık oluşturmak amacıyla köpek davranışı ve ısırmayı önleme eğitimine dikkat çekilmektedir. Ayrıca canlı kuduz ve kuduzla ilgili (lyssavirüs) virüsleri kullanan laboratuvar çalışanları gibi belirli yüksek riskli mesleklerde bulunan kişilere maruziyet öncesi aşılama önerilir ve profesyonel veya kişisel faaliyetleri kendilerini yarasalar, etoburlar veya enfekte olabilecek diğer memelilerle doğrudan temasa getirebilecek kişiler (hayvan hastalıkları kontrol personeli ve vahşi yaşam koruculari vb.) için de aşılama önerilmektedir. Maruziyet öncesi aşılamanın, kuduza maruz kalma riski yüksek olan ve kuduz biyolojik maddelerine sınırlı yerel erişimi olan uzak bölgelerde yaşayan dış mekan yolcuları ve göçmenler için de endike olabileceği belirtilmektedir. Kuduz için inkübasyon süresi tipik olarak 2-3 aydır ancak virüs giriş yeri ve viral yük gibi faktörlere bağlı olarak 1 haftadan 1 yıla kadar değişebilmektedir. Saldırgan kuduz, hiperaktivite, uyarılabilir davranış, hidrofobi (su korkusu) ve bazen aerofobi (cereyan veya temiz hava korkusu) ile sonuçlanır. Kardiyo-solunum durması nedeniyle birkaç gün sonra ölüm meydana gelir. Mevcut tanı araçları, klinik hastalığın başlangıcından önce kuduz enfeksiyonunu tespit etmek için uygun değildir ve kuduza özgü hidrofobi veya aerofobi belirtileri olmadıkça, klinik teşhis zor olabilir. İnsan kuduzu, enfeksiyonlu dokulardaki (beyin, deri veya tükürük) tüm virüsleri, viral antijenleri veya nükleik asitleri saptayan çeşitli teşhis teknikleriyle ve ölüm sonrası doğrulanabilir [3-5].

İnsanlar genellikle kuduzlu bir hayvandan derin bir ısırık veya çizilmenin ardından enfekte olur. Dünya üzerinde kuduz ölümlerinin kaynağı incelendiğinde; Amerika'da son yıllarda yarasaların insan kuduz ölümlerinin başlıca kaynağı olduğu çünkü köpek aracılı bulaşma yarasa kuduzunun Avustralya ve Batı Avrupa'da yeni ortaya çıkan bir halk sağlığı tehdidi olduğu da belirtilmektedir. Tilki, rakun, kokarca, çakal, firavun faresi ve diğer vahşi etobur konakçı türlerine maruz kalmanın ardından insan ölümleri çok nadirdir ve kemirgenlerin ısırıklarının kuduz yaydığı bilinmemektedir [3]. Enfekte hayvanların tükürüğünün insan mukozası veya taze deri yaraları ile doğrudan temas etmesi durumunda da bulaşma meydana gelebilir. Virüs içeren aerosollerin solunması veya enfekte

olmuş organların transplantasyonu yoluyla kuduzun yayılması tarif edilmektedir, ancak son derece nadirdir. Isırıklar veya tükürük yoluyla insandan insana bulaşma teorik olarak mümkündür ancak hiçbir zaman doğrulanmamıştır. Aynı durum, enfekte hayvanların çiğ et veya süt tüketimi yoluyla insanlara bulaşması için de geçerlidir. Maruziyet sonrası profilaksi, kuduza maruz kaldıktan sonra acil tedavi ile virüsün merkezi sinir sistemine girmesinin engellenmesi amaçlanır. Bu amaçla;

- Şüpheli bir maruziyetten sonra mümkün olan en kısa sürede ısırık yarasının veya tırmalanan yerin kapsamlı bir şekilde yıkanması ve lokal tedavisi,
- Dünya Sağlık Örgütü-DSÖ (World Health Organization-WHO) standartlarını karşılayan güçlü ve etkili kuduz aşısı kürü ve kuduz immünoglobülin (RIG) uygulaması.

Kuduz virüsüne maruz kaldıktan hemen sonra tedaviye başlamak, semptomların başlamasını ve ölümü etkili bir şekilde önleyebilmektedir. Kuduz, DSÖ`nün 2021-2030 yol haritasına dahil edilmiş olup zoonotik bir hastalık olarak ulusal, bölgesel ve küresel düzeylerde koordinasyon gerektirmektedir. DSÖ, Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organization of the United Nations-FAO) ve Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü (World Organisation for Animal Health-OIE), tek sağlık yaklaşımı altında kuduza öncelik vermiştir. DSÖ, kuduzla ilgili teknik rehberliği düzenli olarak güncellemekte ve yaymaktadır (örneğin epidemiyoloji, sürveyans, teşhis, aşılar, güvenli ve uygun maliyetli aşılama, insan ve hayvan kuduzu için kontrol ve önleme stratejileri, operasyonel program uygulaması, insan kuduz hastaları için palyatif bakım) [6-8].

Kuduz Aşısı Üretimi

Kuduz antiserumu; hücre kültüründen üretilmiş kuduz aşısına karşı bağışıklanan at veya diğer memeli hayvanların serum/plazmalarının saflaştırılması ile elde edilen, kuduz virüsünü etkisiz hale getirme gücüne sahip globülinler içeren, sıvı veya dondurularak/vakum altında kurutulmuş, kas içi uygulanan bir üründür [9]. İnsan kuduzunun etkin kontrolünde en önemli unsurlardan biri etkili aşıların kullanılmasıdır. İlk olarak Luis Pasteur tarafından memeli sinir dokularında üretilen aşılar, bir asırdan uzun süredir kullanılmaktadır. Memeli sinir dokularında (koyun ve keçi gibi yetişkin hayvanların beyni) üretilen kuduz aşıları uzun yıllar dünya çapında kullanılmıştır. Kullanıldığı dönemlerde hastalığa karşı insanları korumada başarılı olmakla birlikte aşı içerisinde kalan miyeline bağlı olarak bağışıklamayı takiben gelişen ensefalomiyelit ve polinörit gibi aksi tesir/advers reaksiyonla sonuçlanan klinik tablolara yol açtığı gözlenmiştir. Virüs, sıçan ve fare gibi hayvanların yeni doğan yavrularının beyinlerinde, beyinde miyelin gelişmeden önce yetiştirildiğinde bu tür advers reaksiyonların riski azalsa da, bu aşıların teknolojik gelişmeleri takiben virüsün embriyolu yumurtalar ve hücre kültürlerinde çoğaltılmasının etkililik ve güvenlilik açısından daha avantajlı olacağı düşünülmektedir. Kuduz aşı üretimi (başlangıç materyallerinin kabulünden bitmiş ürün sevkiyatına kadar) pilot üretimi de kapsayacak şekilde kalite yönetim sistemi gözetim ve denetiminde İyi İmalat Uygulamaları-İİU (Good Manufacturig Practices-GMP) sertifikalı tesislerde yapılmalıdır. Kuduz, şu anda tanınan herhangi bir bulaşıcı hastalığın en

yüksek vaka ölüm oranına sahiptir; bu nedenle, üretim ve kontrol tesislerinde virüse spesifik çalışma için uygun biyogüvenlik seviyesinin tahsisi zaruri bir önlem olarak belirtilir [10-12].

Üretim gereklilikleri arasında aşağıda belirtilenler uluslarası kaynaklara göre önem arz eder [10-15,20];

- Üretim ve kontrol tesislerinde çalışan personel sağlıklı olmalı, takibi düzenli yapılmalı ve kuduz virüsü ile kazara enfeksiyona karşı yeterince eğitilmeli ve korunmalıdır.
- Üretim ve kontrol alanlarındaki tüm personelin kuduza karşı aşılanmasını sağlamak ve Hızlı floresans odaklama inhibisyon testi (Rapid fluorescent focus inhibition test-RFFIT) ve Floresans anti-virüs nötralizasyonu (The fluorescent antibody virus neutralization-FAVN) ile ölçülen serum mL başına en az 0.5 IU antikor titresini korumak için adımlar atılmalıdır. Periyodik titre kontrolü ve gerekirse, sürekli kuduza maruz kalma riski olan kişiler için tekrar (booster) enjeksiyonlar önerilir.
- Kuduz aşısı üretimi, aynı iş günü içinde diğer bulaşıcı mikroorganizmaları, hayvanları veya doku kültürlerini işlemeyen ayrı bir personel tarafından yapılmalıdır. Kuduz virüsünün üretim tesisinden dış çevreye bulaşma risklerini en aza indirmek için de adımlar atılmalıdır [11].
- Kuduz aşıları insan diploit hücrelerinde, sürekli hücre hatlarında (Vero), primer hamster böbrek hücrelerinde, primer civciv embriyo fibroblast hücrelerinde ve embriyolu ördek/tavuk yumurtası gibi substratlarda üretilebilir. Her bir substratın kullanılabilmesi için ilgili standart doküman ve kılavuzlarda (Türk Farmakopesi, Avrupa Farmakopesi, DSÖ Teknik Rapor Serileri) belirtilen asgari gerekliliklerle uyumlu olmalıdır [10,11.15].
- DSÖ, Biyolojik Standardizasyon Uzman Komitesi'nin raporundaki gereklilikler doğrultusunda, kendi ana ve çalışma hücrelerinin hazırlanması için üreticilere iyi karakterize edilmiş bir başlangıç maddesi olarak sunulan Vero hücrelerinin bir hücre bankasını kurmuştur. Kuduz aşılarının üretimi için bir diploit hücre veya sürekli hücre hattının kullanılması, hücre tohum sistemine dayanmalı, hücre tohumu ve çalışma hücre bankasının hücre tohumundan türetildiği en yüksek pasaj sayısı (veya popülasyon çiftleri) ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanmalıdır. Aşı üretiminde kullanılacak hücre kültür ortamında kullanılan sığır, koyun veya keçi kökenli herhangi bir bileşenin kaynağının kabul edilebilirliği ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanmalıdır. Bu bileşenler, hayvan bulaşıcı süngerimsi ensefalopatileri ile ilgili olarak güncel DSÖ kılavuzlarına uymalıdır. İnsan serumu kullanılmamalıdır. İnsan albümini kullanılıyorsa, Kan, Kan Bileşenleri ve Plazma Türevlerinin Toplanması, İşlenmesi ve Kalite Kontrolü için Gözden Geçirilmiş Gereklilikleri (Biyolojik Madde Gereklilikleri No. 27) ve ayrıca insan bulaşıcı ensefalopatileri ile ilgili güncel DSÖ kılavuzlarını karşılamalıdır [12-14].
- Penisilin ve diğer beta-laktam antibiyotikler, üretimin herhangi bir aşamasında kullanılmamalıdır. Kanamisin ve neomisin gibi uygun antibiyotiklerin ise minimal derişimleri, ulusal düzenleyici otoritenin değerlendirme ve onayı ile kullanıma alınmalıdır.

- Sığır kökenli tripsin kaynağı/kaynakları kullanılırsa, ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanmalıdır. Sığır tripsin kullanılırsa, hayvan bulaşıcı süngerimsi ensefalopatileri ile ilgili olarak geçerli DSÖ kılavuzlarında belirtilen gerekliliklere uymalıdır. Aşı üretiminde kullanılacak virüs suşları; tüm tohum serilerinin üretiminde kullanılan kuduz virüsü suşları iyi karakterize edilmeli, kararlı biyolojik karakteristiklerle laboratuvara uyarlanmalı ve zayıflatılmalıdır. Suşlar, kökeni hakkında bilgi de dahil olmak üzere tarihsel kayıtlarla tanımlanmalıdır. Suşların, inaktive edildiğinde güvenli ve immünojenik aşılar elde edildiği gösterilmiş olmalıdır [10-14].
- İnsanlarda kuduza karşı korunmayı indüklediği bilinen hücre substratlarından ve embriyonlanmış yumurtalardan elde edilen aşıların üretimi için DSÖ kılavuzları ve teknik rapor serilerinde belirtilen aşı suşları kullanımı ve virüs seçiminde; tam karakterizasyonu ve üretim substratına adaptasyonu ruhsatlandırma için kuduz aşılarının genel değerlendirmesinde gerekçelendirilmelidir [11].
- Aşı suşları, kuduz virüsünün karakterizasyonu için monoklonal antikorların kullanımı da dahil olmak üzere moleküler ve serolojik yöntemlerle karakterize edilmelidir. Bu aynı zamanda hayvana aşılamayı (inokülasyon) da içermelidir. Ek olarak, en azından ana veya çalışma tohumunun glikoprotein ve nükleoprotein genlerinin sıralanması düşünülmelidir [11].
- Tüm ana ve çalışma tohum serileri, hayvan bulaşıcı süngerimsi ensefalopatilerin bulaşma risklerini en aza indirmek için mevcut kılavuzlara uymalıdır. Aşı üretimi virüs tohum seri sistemine dayanmalıdır. Çalışma virüs tohum serisi, ana virüs tohum serisinden çıkarılmış ve tam olarak karakterize edilmiş beş pasajdan fazla olmamalıdır. Aşılar, pasajlara daha fazla müdahale olmadan, çalışma tohum serisinden yapılmalıdır. Virüs tohumu serisi ya dondurularak kurutulmuş ya da dondurulmuş halde muhafaza edilmeli ve her seri ayrı ayrı saklanmalıdır. Dondurulmuş ise, tohum serileri -60 °C'nin altındaki bir sıcaklıkta sürekli tutulmalıdır [10-13].
- Virüs ana ve çalışma tohum serisi, ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanan yöntemlerle kuduz virüsü olarak tanımlanabilir olmalıdır. Tüm ana ve çalışma tohum serileri, hayvan bulaşıcı süngerimsi ensefalopatilerin bulaşma risklerini en aza indirmek için mevcut kılavuzlara uymalıdır. Her bir virüs tohumu serisi, bakteriyel, fungal ve mikoplazmal kontaminasyon (bulaşma) için test edilmelidir. İstenmeden ortaya çıkan ajanlar için hücre kültüründe, deney hayvanlarında (bu testler için virüs önce belirli bir anti-kuduz serumu ile nötralize edilmelidir) Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction-PCR) testleri yapılmalıdır [11].

Kuduz Aşısı Üretiminde Kritik Aşamalar

DSÖ'nün Hücre substratlarında ve embriyonlanmış yumurtalarda üretilen beşeri inaktive kuduz aşısı için öneriler teknik raporuna göre, hücre kültürleri ve tek virüs hasatlarının ve saflaştırılmış bulk (yığın) maddenin kontrolü için aşağıda belirtilen hususların dikkate alınması önerilmektedir [11]:

Hücre kültürlerinin kontrolü

- Kontrol hücresi kültürleri, üretim hücresi kültürlerine benzer şekilde ele alınmalı, ancak yabancı virüslerin tespiti için kullanılabilmeleri için inoküle edilmemiş şekilde kalmalıdır.
- Hemadsorbe edici virüsler için testler, kontrol hücresi sıvılarında diğer istenmeden ortaya çıkan ajanlar için testler, tanıma testi yapılmalıdır.

Tek virüs hasatlarının ve saflaştırılmış bulk (yığın) maddenin kontrolü

- Üretim hücrelerinin virüs çalışma tohum serisi ile inokülasyonundan sonra, inoküle edilmiş ve kontrol hücre kültürleri, herhangi bir zamanda, tanımlanmış kuluçka dönemleri için ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanan aralık dışında bir sıcaklıkta olmamalıdır.
- pH için en uygun aralık, enfeksiyonun çokluğu, hücre yoğunluğu ve kuluçka süresi her üretici için oluşturulmalı ve ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanmalıdır.
- İnoküle edilmiş hücre kültürlerinin, hasat edilen her virüs süspansiyonunun tek (single) bir hasat olarak tanımlanabilecek şekilde işlenmesi tüm testlerin sonuçları elde edilinceye kadar diğer hasatlardan ayrı tutulması tavsiye edilir.
- Tek virüs hasatlarında sterilite testleri, tanıma testi, enfektivite için virüs titrasyonu, antijen içeriğinin belirlenmesi, üretim tutarlılığının izlenmesi sonrasında virüs hasatlarının saflaştırılması ve/veya konsantrasyonu, hücresel DNA kalıntısı için test, hayvan serumu kalıntı testi yapılmalıdır.

Kuduz virüs inaktivasyon işlemi

DSÖ'nün Hücre substratlarında ve embriyonlanmış yumurtalarda üretilen beşeri inaktive kuduz aşısı için öneriler teknik raporuna göre, kuduz virüs inaktivasyon işlemi için aşağıda belirtilen hususların dikkate alınması önerilmektedir [11]:

- İnaktivasyon için kullanılan yöntemler ve ajanlar ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanmalıdır.
- Virüs agregatlarının varlığının etkisiz inaktivasyona neden olabileceği göz önüne alındığında, bunu önlemek için büyük özen gösterilmelidir. Bu mümkün değilse, inaktivasyon işlemine başlamadan önce virüs agregatları çıkarılmalıdır. Kullanılan yöntemin üreticinin elinde sürekli olarak etkili olduğu gösterilmelidir.
- İnaktivasyon kinetiğinin, en az beş ardışık parti kullanılarak tutarlı bir şekilde etkili olduğu üretici tarafından gösterilmelidir.
- İnaktivasyonu tamamlamak için toplam inaktivasyon süresi belirlenmelidir. Rutin olarak kullanılan inaktivasyon süresi, virüsü tamamen inaktive etmek için gereken sürenin en az iki katı olmalıdır.

- İnaktivasyon işleminin doğrulanmasının bir parçası olarak, uygun zamanlarda alınan virüs örnekleri, inaktivasyon eğrisini belirlemek için hemen hassas substrata (ör. fareler, hücre kültürleri) inoküle edilmelidir. Bu, inaktivasyon işleminin yeniden üretilebilirliği hakkında bilgi sağlar.
- Kuduz virüsünü etkisiz hale getirmek için çeşitli yöntemler başarı ile kullanılmıştır. İnaktive edici kimyasalın derişimi, sıcaklık ve inaktivasyon için gerekli olan süre, belirli bir üretim süreci için her üretici tarafından tanımlanmalıdır.
- Tatmin edici aşılar, 2-8 °C'de doku kültüründen virüs süspansiyonlarının beta-propiolakton ile 1:3500 ila 1:5000 arasında 24 saat boyunca bir seyreltmede işlenerek veya aşağıda belirtilen etkili inaktivasyon test sonuçları ile gösterildiği üzere inaktivasyon tamamlanıncaya kadar işlenerek hazırlanabilir.
- Konsantre bulk ara maddelerin depolanması için koşullar ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanmalıdır.
- Formaldehit, kuduz aşılarının üretiminde inaktive edici bir ajan olarak da kullanılabilir. Serbest formaldehit testleri uygun aralıklarla yapılmalı ve derişim belirtilen seviyelerde tutulmalıdır. Her saflaştırılmış bulk madde, koruyucu madde ve diğer maddelerin eklenmesinden önce virüsün etkili bir şekilde inaktivasyonu için uygun bir test sisteminde test edilmelidir.
- Miktar tayininin duyarlılığı üretim için kullanılan kuduz virüsüne göre belirlenmeli ve en hassas miktar tayini kullanılmalıdır.
- Testler inaktivasyondan hemen sonra yapılmalıdır. Numuneler inaktivasyondan hemen sonra test edilmezse, < - 60°C'de dondurularak saklanmalıdır.
- Virüs titresi kaybı olmadığını doğrulamak için depolama koşulları valide edilmelidir.
- Test, üretimin daha sonraki bir aşamasında gerçekleştirilirse, uygun biyogüvenlilik seviyeleri korunmalıdır.
- Canlı virüsün varlığını test etmek için kuduz virüsü amplifikasyon testi, aşı üretimi için kullanılan hücre kültüründe veya daha fazla duyarlılığa sahip olduğu gösterilen bir tür hücre hattında yapılmalıdır. Ulusal düzenleyici otorite hücre hattını ve kullanılan yöntemi onaylamalıdır. Üreticiler, kuduz virüsüne karşı oldukça duyarlı olduğu bilinen Vero hücreleri, BHK-21 ve nöroblastom hücreleri gibi hücreleri kullanmaya teşvik edilir.
- Kuduz virüsü amplifikasyon testi aşağıdaki gibi yapılmalıdır: En az 25 insan dozuna karşılık gelen en az 25 mL bulk aşı, aşı üretimi için kullanılan tipteki beş hücre kültürüne veya en az eşit hassasiyete sahip bir türe inoküle edilmelidir. Mililitre aşı başına en az 3 cm^2 hücre tabakası kullanılmalıdır. İnokulumun uygun bir süre için adsorpsiyonundan sonra, ortamın aşıya oranı 1:3'ten fazla olmayacak şekilde ortam eklenmelidir. Kültürler en az 21 gün boyunca gözlemlenmelidir. Hücre kültürleri, immünofloresans ile kuduz virüsünün varlığı için doğrudan boyanabilir. Aksi takdirde, her bir kültür sıvısının 5

mililitresi 14. ve 21. günlerinde havuzlanmalı ve bu havuzun 0.03 mL'si 12-15 g'lık 20 adet sütten kesilen farenin her birine intrakranial olarak inoküle edilmelidir. Bu fareler 14 gün boyunca gözlemlenmelidir. Kuduz virüsünün neden olduğu herhangi bir semptom, immünofloresans miktar tayini ile doğrulanmalıdır. Gözlem süresinin sonunda sitopatik etki tespit edilmemelidir. Farelerin inokülasyonu kadar hassas olduğu gösterilen ve ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanan, 21. günde kuduz virüsü ile enfekte olmuş hücrelerin tespiti için immünofloresans kullanımını içeren bir test kullanılabilir. İmmünofloresans tarafından kontrol edilen hücrelerin oranı için bir spesifikasyon ulusal düzenleyici otorite tarafından belirlenmeli ve onaylanmalıdır. Amplifikasyon miktar tayininin duyarlılığını artırabileceğinden hücrelerin tripsinizasyonunun 7. günde dahil edilmesi düşünülmelidir.

Final bulk hazırlanması ve kontrolü

DSÖ'nün Hücre substratlarında ve embriyonlanmış yumurtalarda üretilen beşeri inaktive kuduz aşısı için öneriler teknik raporuna göre, final bulk hazırlanması ve kontrolü için aşağıda belirtilen hususların dikkate alınması önerilmektedir [11,15,20]:

- Final bulk maddenin hazırlanmasında, sadece ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanan insan albümini, adjuvan, koruyucu maddeler ve diğer maddeler eklenmelidir. Bu tür maddelerin, kullanılan derişimde ürünün güvenliliğini veya etkililiğini bozmadığı uygun testlerle gösterilmiş olmalıdır.
- Eğer beta-propiolakton inaktivasyon için kullanılmışsa, işlem bu kimyasalın final bulk maddede saptanamayacağı şekilde olmalıdır. Beta-propiolaktonun belirlenmesi için kullanılan test, söz konusu aşı için inaktivasyon kinetiğine uygun zaman aralıklarında gerçekleştirilen tanımlanmış hassasiyete sahip olmalıdır. Test ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanmalıdır.
- Virüs hasat edildikten sonra beşeri kullanım için kuduz aşısına antibiyotik eklenmemelidir.
- Final bulk maddenin glikoprotein antijeninin belirlenmesi için yapılan miktar tayinlerinin, üretim tutarlılığının izlenmesi için uygun olduğu gösterilmiş olmalıdır. Bu tür miktar tayinleri Tekli Radyal İmmünodifüzyon (Single Radial Immunodiffusion-SRID) ve Enzim İmmünotayin (Enzyme Immunoassay-EIA) testini içerir. Antikorların ve diğer reaktiflerin seçimi kritik öneme sahiptir. Her final bulk, biyolojik maddelerin sterilitesi için genel gereklilikleri karşılamak zorundadır.

Dolum ve kaplar

Biyolojik ürünler için İİU kapsamında verilen dolum ve kaplarla ilgili gereklilikler final formda doldurulmuş aşı için geçerli olmalıdır [11,12,15,20].

Final ürün üzerinde kontrol testleri

DSÖ'nün Hücre substratlarında ve embriyonlanmış yumurtalarda üretilen beşeri inaktive kuduz aşısı için öneriler teknik raporu WHO TRS 941 Annex II, Avrupa Farmakopesi 10.0 Kuduz aşısı, hücre kültüründe hazırlanan, beşeri (01/2019:0216) monografı ile Türk Farmakopesi TFA-01/2019:80090 monografına göre, final ürün üzerinde kontrol testleri için aşağıda belirtilen hususların dikkate alınması önerilmektedir [11,15,20,21].

- Her dolum serisinden en az bir etiketli kap üzerinde uygun bir yöntemle tanıma testi yapılmalıdır. Her dolum serisi, bakteriyel ve fungal sterilite açısından test edilmelidir. Biyolojik maddelerin sterilitesi için genel gereklilikleri karşılamalıdır.
- Her son seri, ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanan bir genel güvenlilik (innocuity) testi kullanılarak beklenmedik toksisite (bazen anormal toksisite olarak adlandırılır) açısından test edilmelidir. Final bulkta yapılmamışsa, antijen içeriği belirlenmeli ve ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanan sınırlar içinde olmalıdır.
- Her final serinin potensi belirlenmelidir. Test edilmeden önce, dondurularak kurutulmuş aşı, insanlarda kullanılacak form için sulandırılmalıdır.
- Kuduz için laboratuvar tekniklerinde tarif edildiği şekilde Ulusal Sağlık Enstitüleri (National Institutes of Health-NIH) testi söz konusu aşı üretiminin tutarlılığını değerlendirmek için kullanılmalıdır. Bu aynı zamanda raf ömrü belirlemesinin yanı sıra referans (şahit) preparatları kalibre amacıyla ürün stabilitesini (dayanıklılığını) test etmek için kullanılmalıdır.
- Ovalbumin içeriği; sadece embriyonlanmış yumurtalarda üretilen aşılar için, her bir dolum serisinin ovalbümin içeriği, final bulk üzerinde yapılmazsa, final seride belirlenmeli ve ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanan sınırlar içinde olmalıdır.
- Her dondurularak kurutulmuş serinin temsili bir örneğindeki nem kalıntısı, ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanan bir yöntemle belirlenebilir. Nem içeriğinin üst sınırı ulusal düzenleyici otorite tarafından belirtilmelidir. Genel olarak %3'ten az nem seviyeleri tatmin edici olarak kabul edilir.
- Her final parti pirojenik maddeler yönüyle test edilmelidir. Test ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanmalıdır.
- Final sulandırılmış aşıdaki sığır serum albümin seviyesinin insan dozu başına 50 ng'dan az olduğunu doğrulamak için final serinin bir örneği test edilmelidir.
- Aşıya bir koruyucu eklenmişse, koruyucu madde içeriği ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanan bir yöntemle belirlenmelidir.
- Sürekli hücre hatlarında çoğaltılan virüsler için, final bulk aşamasında artık hücresel DNA testi yapılmamışsa final ürün de mutlaka test edilmelidir.

Etiketleme

Biyolojik ürünler için İİU kapsamında verilen öneriler aşağıdakilerin eklenmesiyle geçerli olmalıdır [11,12,15,20].

Kap veya ambalaj üzerindeki etiket aşağıdaki bilgileri içermelidir [11,15,20]:

- Aşıda bulunan kuduz virüsünün suşu,
- NIH testi ile belirlenen ve insan dozu başına IU olarak ifade edilen aşının en düşük potensi,
- Aşının hazırlanması için kullanılan substrat,
- Virüsü inaktive etmek için kullanılan yöntem,
- Aşıda bulunan stabilizatör,
- Koruyucu veya katkı maddesinin niteliği ve miktarı,
- Seyrelticinin hacmi ve yapısı,
- Aşı kurutulmuş formda ise sulandırıldıktan sonra aşıların kullanımı,
- Son kullanma tarihi (hem birincil hem de ikincil ambalajda belirtilmelidir).

Final aşının üreticisi hazırlamadıysa, etiketin hem üreticinin hem de bulk malzemenin kaynağının isimlerini taşıması arzu edilir. Varsa aşıda bulunan antibiyotiklerin niteliği ve kalıntı miktarı dahil edilebilir [11].

Stabilite, depolama ve son kullanma tarihi

Stabilite değerlendirmesi, kalite değerlendirmesinin önemli bir parçasıdır. Stabilite çalışmalarının amacı, aşının raf ömrü, depolama süresi veya kullanım süresi sonunda hala kalite, güvenlilik ve etkililiği destekleyen gerekli özelliklere sahip olmasını sağlamaktır. Lisanslama amacıyla bir aşının stabilitesini destekleyen çalışmalar gerçek zamanlı gerçek durum çalışmaları olarak yapılmalıdır. Stabilite gösteren parametreler dikkatle seçilmelidir. Bunlar, depolama için önerilen koşullar altında gerçek zamanlı çalışmaların bir parçası olarak potens testini her zaman içermeli, ancak bunlarla sınırlı olmamalıdır. Depolama sırasında uygun zaman aralıklarında potens kaybını belirlemek için testler yapılmalıdır. Farklı bulklardan elde edilen en az üç grup aşıdan elde edilen son kaplar, depolama sırasında stabiliteyi göstermek için son kullanma tarihinde test edilmelidir. Stabiliteyi etkileyebilecek sıcaklıklarda sınırlı süreler boyunca saklanan bir ürün için hızlandırılmış stabilite testinden elde edilen veriler, devam eden gerçek zamanlı stabilite çalışmalarından elde edilen ön verileri destekleyebilir, ancak bunların yerini almamalıdır. Bununla birlikte, ürünün raf ömrünü desteklemek için stabilite ile ilgili daha fazla veri, gerçek koşullar altında uzun vadeli stabilite çalışmalarına dayanmalı ve onay için ulusal düzenleyici otoritelere sunulmalıdır. Lisanslamanın bir parçası olarak onaylanan raf ömrünün değiştirilmesi, önerilen değişikliği desteklemek

için ek stabilite verileri gerektirir ve ilgili ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanmalıdır. Lisanslama sonrasında, önerilen raf ömrü boyunca stabilite izlenmelidir. Stabilite testi, üretimin farklı aşamalarında, yani tek hasatlarda, final bulk ve final seride yapılmalıdır. Stabilite gösteren parametreler üretim aşamasına göre seçilmelidir. Aşı üretimi sırasında tüm maddelere, özellikle tek hasat, saflaştırılmış bulk ve final bulk gibi ara ürünlere raf ömrü verilmesi önerilir. Geliştirilmekte olan aşılar için, klinik araştırma onayı amacıyla stabilite verileri beklenmektedir. Ancak, daha sınırlı bir süre için oluşturulan stabilite verileri bu aşamada kabul edilebilir. Bir aşının stabilite profilini desteklemek için uygun belgeler, yukarıda belirtilen tüm aşamalarda yetkili ulusal düzenleyici otoriteye sunulmalıdır. Önerilen depolama koşulları ve tanımlanan en yüksek depolama süresi, yukarıda açıklandığı gibi stabilite çalışmalarına dayanmalı ve ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanmalıdır. Hem sıvı hem de dondurularak kurutulmuş kuduz aşıları için 2-8 °C'lik bir sıcaklık tatmin edici bulunmuştur. Bu, aşının saklandığı koşullar etikette belirtilenlere uygunsa, kap veya ambalajın etiketinde belirtilen en düşük potensin serbest bırakıldıktan raf ömrünün sonuna kadar muhafaza edilmesini sağlamalıdır. Son kullanma tarihi, yukarıda açıklandığı gibi stabilite çalışmaları tarafından desteklenen raf ömrü temelinde tanımlanmalıdır ve ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanmalıdır [11,17-19].

Kuduz Aşısı Kalite Kontrol Gereklilikleri

Klinik dışı çalışma raporları

Tek doz ve tekrarlayan doz toksisitesi kemirgen ve kemirgen olmayan (insan dışı primat) hayvan gruplarında, İyi Laboratuvar Uygulamaları (Good Laboratory Practice-GLP) kalite sistemine uygun test laboratuvarlarında, Aşıların Klinik Olmayan Değerlendirmesine İlişkin Rehbere [16] uygun olarak ürünün immünojenisite ve toksikolojik olarak değerlendirmesi (çalışma sonuçları ve raporlar), klinik çalışmalara başlayabilmek açısından gereklidir [16-17].

Klinik çalışma raporları

Klinik çalışmalar, İyi Klinik Uygulamaları (Good Clinical Practice-GCP) kalite sistemine uygun Onaylı Merkezlerde ve Aşıların Klinik Değerlendirmesine İlişkin Rehbere uygun olarak yapılmalı ve raporlandırılmalıdır [18-19].

Bitmiş ürün kalite kontrol testleri

Kuduz aşısı bitmiş ürün kalite kontrol testleri aşağıda Tablo 1`de yer alan; Avrupa Farmakopesi ve adaptasyonunu içeren Türk Farmakopesi`nde belirtilen yöntemler ile işletme içi yöntemlerden oluşur.

Tablo 1. Kuduz aşısı için bitmiş ürün kalite kontrol testleri [11,15,20,22].

Kuduz Aşıları Kalite Kontrol Testleri		
Test	**Yöntem**	**Referans**
Kuduz aşısı potens testi	NIH yöntemi (National Institutes of Health-NIH mouse potency test)	EP-01/2019:0216 / TFA-01/2019:80090
Fiziksel muayene	Görünür partikül yöntemi	EP-01/2020:20920 / TFA-01/2017:20241
pH tayini	Potansiyometrik yöntem	EP-07/2016:20203 / TFA-01/2017:20009
Zararsızlık testi	Akut toksisite yöntemi	EP-01/2008:20609 / TFA-01/2017:20147
Sterilite testi	Membran filtrasyon yöntemi	EP-04/2011:20601 / TFA-01/2017:20143
Ozmolalite tayini	Donma noktası alçalması yöntemi	EP-07/2019:20235 / TFA-01/2017:20041
Bakteriyel endotoksin (LAL) testi	Türbidimetrik kinetik yöntem	EP-01/2018:20614 / TFA-01/2019:20152
Hacim miktar tayini	Volümetrik yöntem	EP-04/2010:20917 / TFA-01/2017:20238
Tiyomersal miktar tayini	Spektrofotometrik yöntem	IP-2.3.48
Pirojenite	Biyolojik (Vücut sıcaklığı artışı) yöntem	EP-07/2020:20608 / TFA-01/2017:20146
Sodyum klorür miktar tayini	Titrimetrik yöntem	EP-01/2017:0193 / TFB-01/2018:03331
Klorür tanıması	Fizikokimyasal yöntem	EP-01/2008:20301 / TFA-01/2017:20067
Sodyum tanıması	Fiziksel (Çöktürme) yöntemi	EP-01/2008:20301 / TFA-01/2017:20067
Artık DNA miktar tayini	Real Time Quantitative PCR/ İmmunnenzimatik Method/ Spektrofotometrik yöntem	EP-01/2020:20635/ İşletme içi yöntem
Artık BSA/FBSA (Sığır Serum Albümini:Bovine Serum Albumin/ Fetal Sığır Serum Albümini:Fetal Bovine Serum Albumin) miktar tayini	Enzim bağlı immünosorbent deneyi (Enzyme-linked immunosorbent assay –ELISA test)	EP-01/2008:20701 / TFA-01/2017:20169
Artık nem miktar tayini	Karl Fischer yöntemi	EP-04/2018:20512 / TFA-01/2018:20114
Glikoprotein miktar tayini*	İmmünokimyasal yöntem	EP-01/2008:20701 / TFA-01/2017:20169

* Glikoprotein miktar tayini NIH yöntemine alternatif *in vitro* yöntem olarak önerilmektedir ancak uluslararası standardı Pitman-Moore (PM) suşundan türetilmemiş aşıların glikoprotein ve ribonükleoprotein bileşenlerinin tayini için uygunluğunun değerlendirilmesi gerekir.

Uluslararası Standartlar

Ulusal Biyolojik Standartlar ve Kontrol Enstitüsü, Potters Bar, Hertfordshire, En6 3QG, İngiltere Dünya Sağlık Örgütü Uluslararası Biyolojik Ürün Standart/Referans merkezi olarak da hizmet vermektedir [21]. DSÖ 7. Uluslararası Kuduz Aşısı Standardının 16/204 NIBSC kodu ile 08.11.2018 tarihinden itibaren erişimi mevcuttur. Standart Pitman Moore Suşundan yapılmıştır. 8.9 IU/ampul NIH testi, 2.5 IU/ampul ELISA (Glikoprotein) testi, 2.9 IU/ampul Tekli Radyal Difüzyon (Single Radial Diffusion-SRD) (Glikoprotein) testi için ünite içermektedir. Kuduz immünoglobulini DSÖ 2. Uluslararası Kuduz İmmünoglobulin Standardının, RAI NIBSC kodu ile, 03.12.2019 tarihinden itibaren erişimi mevcuttur. İnsan immünoglobülininin bir preparatıdır ve her ampul 30 IU içerir [22].

SONUÇ

Etkeni ve patogenezi bilinmesine rağmen kuduzun hala öldürücü bir hastalık olduğu ancak aşı ile önlenebildiği ve insanda kuduz virüsü ile temas sonrasında profilaksinin koruyucu olabildiği bilinmektedir. DSÖ kaynaklarına göre her yıl dünya çapında 29 milyondan fazla kişiye ısırılma sonrası aşı yapıldığı bu sayede her yıl yüz binlerce kuduz kaynaklı ölümün önlendiğinin tahmin edildiği belirtilmekte bu doğrultuda beşeri kullanım için kuduz aşısı üretiminin kritik önemi gündeme gelmektedir. Aşıların başarılı bir şekilde geliştirilmesi; araştırma ve geliştirme, kalite kontrol, kalite güvence sistemi ve yasal düzenlemelere uygun üretimi içeren uzun bir süreci kapsar. Hayati öneme sahip kuduz aşısının üretimi ve aşılamadan beklenen olumlu sonuçların elde edilmesi kapsamında hammaddelerin kontrolü ve izlenmesi, üretim süreçlerinin yeterliliği, kalite kontrol yöntemleri ve spesifikasyonlarının uygunluğu, bitmiş ürünlerin kontrolüne bağlı olan kalite güvence önlemleri için; diğer tüm beşeri aşılar gibi başlangıç materyallerinden bitmiş ürüne kadar üretimin tüm basamaklarında DSÖ teknik raporlarının dikkate alınması, İyi İmalat Uygulamalarına göre üretim, farmakopelerde belirtilen veya uluslararası kabul kriterlerine göre valide edilmiş test yöntemleri ile kalite kontrolün yapılması kuduz aşısı üretiminde önem arz eder.

KAYNAKÇA

[1] Kuduz Profilaksi Rehberi. TC Sağlık Bakanlığı, Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Yayınları, Zoonotik ve Vektörel Hastalıklar Dairesi Başkanlığı, Ankara, 2019: 1-19.

[2] Hayvan Yetiştiriciliği ve Sağlığı Alanı-Zoonoz Salgın Hastalıklar. TC Milli Eğitim Bakanlığı Yayını, Ankara, 2016: 30-33.

[3] World Health Organization, Rabies (2020, 21 Nisan). 01 Ekim 2020 tarihinde https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/rabies adresinden erişildi.

[4] WHO/Department of control of neglected tropical diseases, World Health Organization, Zero by 30: the global strategic plan to end human deaths from dog-mediated rabies by 2030. Dr. B. Abela-Ridder (Ed). 2018: viii, 49 p. 01 Ekim 2020 tarihinde https://www.who.int/rabies/resources/9789241513838/en/ adresinden erişildi.

[5] WHO/Department of control of neglected tropical diseases, World Health Organization, Laboratory techniques in rabies, Fifth edition. Volume 1-2. Charles E. Rupprecht; Anthony R. Fooks; Dr. B. Abela-Ridder (Ed). 2018: xii, 289 p. 01 Ekim 2020 tarihinde https://www.who.int/rabies/resources/9789241515153/en/ adresinden erişildi.

[6] WHO/Department of control of neglected tropical diseases, World Health Organization, WHO Expert Consultation on Rabies: WHO TRS N°1012, Third report. Dr. B. Abela-Ridder (Ed). 2018: viii, 183 p. 01 Ekim 2020 tarihinde https://www.who.int/rabies/resources/who_trs_1012/en/ adresinden erişildi.

[7] WHO/Department of control of neglected tropical diseases, World Health Organization, Rabies vaccines: WHO position paper – April 2018. Dr. B. Abela-Ridder (Ed). 2018: 18 p. 01 Ekim 2020 tarihinde https://www.who.int/rabies/resources/who_wer9316/en/ adresinden erişildi.

[8] WHO/Department of control of neglected tropical diseases, World Health Organization, Scientific and operational updates on rabies. Dr. B. Abela-Ridder (Ed). 2019: 174 p. 01 Ekim 2020 tarihinde https://www.who.int/rabies/resources/vaccine-vol-37-suppl-S1/en/ adresinden erişildi.

[9] Bozyiğit İ, Özdemirhan ME, Alğın Yapar E. Kuduz antiserumu, beşeri kullanım için. Türk Farmakope Dergisi, 2018; 3(4): 10-16.

[10] World Health Organization, Recommendations for the evaluation of animal cell cultures as substrates for the manufacture of biological medicinal products and for the characterization of cell banks, Replacement of Annex 1 (WHO Technical Report Series, No. 878 Annex 3, 2010).

[11] World Health Organization, Recommendations for inactivated rabies vaccine for human use produced in cell substrates and embryonated eggs (WHO Technical Report Series No 941, Annex II 2007).

[12] World Health Organization, Good manufacturing practices for biological products (WHO Technical Report Series, No. 822 Annex I, 2009).

[13] Innovation Partnership for a Roadmap on Vaccines in Europe (IPROVE), Vaccine manufacturing and quality control. 01 Ekim 2020 tarihinde http://iprove-roadmap.eu/wp-content/uploads/2016/03/Vaccine-manufacturing-and-quality-control.pdf adresinden erişildi.

[14] World Health Organization, Regulation and quality control of vaccines, 2017. 01 Ekim 2020 tarihinde https://www.who.int/biologicals/vaccines/regulation_and_quality_ control_ vaccines/en/ adresinden erişildi.

[15] Avrupa Farmakopesi 10.2, Avrupa İlaç Kalite ve Sağlık Bakım Direktörlüğü (EDQM), Strazburg, 2020. Kuduz aşısı, hücre kültüründe hazırlanan, beşeri, 01/2019:0216.

[16] World Health Organization, WHO guidelines on nonclinical evaluation of vaccines (WHO Technical Report Series, No. 927, 2005).

[17] European Medicines Agency, ICH M3 (R2) Non-clinical safety studies for the conduct of human clinical trials for pharmaceuticals, 2013.

[18] European Medicines Agency, Guideline on clinical evaluation of vaccines (EMEA/CHMP/VWP/164653/05 Rev. 1 / 26 Nisan 2018).

[19] World Health Organization, WHO Guidelines on clinical evaluation of vaccines: regulatory expectations (WHO Technical Report Series, No. 924, 2004 Annex I).

[20] Türk Farmakopesi 2017-7.2, TC Sağlık Bakanlığı, Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu. Ankara, 2019.

[21] The National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC). 01 Ekim 2020 tarihinde https://www.nibsc.org/ adresinden erişildi.

[22] WHO International Standard, The 2nd International Standard for Anti-Rabies Immunoglobulin, Human. 01 Ekim 2020 tarihinde https://www.nibsc.org/documents/ifu/RAI.pdf adresinden erişildi.

T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE İLAÇ VE TIBBİ CİHAZ KURUMU

DERLEME MAKALESİ

Türk Farmakope Dergisi 2020, 5(4): 35-44

© Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu 2020

BACILLUS CALMETTE-GUERIN AŞISININ GÜNCEL KALİTE KONTROL GEREKLİLİKLERİ

İlhan BOZYİĞİT, F.Fulya PİRLEPE KATILI, Mehmet Emre ÖZDEMİRHAN, Evren ALĞIN YAPAR*

T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, Analiz ve Kontrol Laboratuvarları Dairesi Başkanlığı, 06430, Sıhhiye-Ankara.

elmek*: evren.yapar@yahoo.com

Geliş tarihi: 16.10.2020 / Kabul tarihi: 19.11.2020

ÖZET

Tüberküloz hastalığı, tüm organ ve sistemleri etkileyebilen ancak en fazla akciğerlerde tutunan *Mycobacterium tuberculosis* kaynaklı bulaşıcı, zoonoz bir hastalıktır. Hastalık taşıyan kişiler vasıtasıyla diğer bireylere solunum yolu ile kolayca yayılabilmekte ve dünya genelinde her yıl milyonlarca kişiyi etkilemektedir. Tüberkülozu önlemek üzere uygulanmakta olan Bacillus Calmette-Guerin/BCG aşısının üretimi ve kontrolü için uluslararası gereklilikler Dünya Sağlık Örgütü dokümanları ve farmakopelerde yer almakta olup, aşı üretimi başlangıç materyallerinin kabulünden bitmiş ürün sevkiyatına kadar, pilot üretimi de kapsayacak şekilde kalite yönetim sistemi gözetim ve denetiminde, İyi İmalat Uygulamalarına/İİU göre gerçekleştirilmeli ve kalite gereklilikleri test edilmelidir. Bu makalede, BCG aşısı üretimi ve kalite kontrolü için temel gerekliliklere güncel bir bakış sunulmaktadır.

Anahtar kelimeler: Tüberküloz, BCG aşısı, Kalite kontrol testleri, Farmakope, DSÖ.

CURRENT QUALITY CONTROL REQUIREMENTS OF BACILLUS CALMETTE-GUERIN VACCINE

ABSTRACT

Tuberculosis disease is an infectious, zoonotic disease caused by *Mycobacterium tuberculosis*, which can affect all organs and systems but is mostly attached to the lungs. It can easily spread to other individuals by respiratory tract through people with the disease and affects millions of people

worldwide every year. International requirements for the production and control of Bacillus Calmette-Guerin vaccine, which is applied to prevent tuberculosis, are included in the documents of the World Health Organization and pharmacopoeias, and under the supervision and control of the quality management system, including the pilot production, from the acceptance of the starting materials to the vaccine production. The vaccine production must be carried out in accordance with Good Manufacturing Practices/GMP and must be tested for quality requirements. This article provides an up-to-date overview of the essential requirements for BCG vaccine manufacture and quality control.

Keywords: Tuberculosis, BCG vaccine, Quality control tests, Pharmacopoeia, WHO.

GİRİŞ

Tüberküloz hastalığı, tüm organ ve sistemleri etkileyebilen ancak en fazla akciğerlerde tutunan öksürük, balgam, hemoptizi, göğüs, sırt, yan ağrısı, nefes darlığı, ses kısıklığı, halsizlik, çabuk yorulma, iştahsızlık, kilo kaybı, çocuklarda kilo almada duraklama, ateş ve gece terlemesi gibi tutulum bölgesine göre değişebilen belirtilerle seyreden *Mycobacterium tuberculosis* kaynaklı bulaşıcı, zoonoz bir hastalıktır [1]. Akciğer tüberkülozu olan kişilerin öksürme, hapşırma veya tükürmesi ile etken havaya yayılmakta ve solunum yolu ile kişileri kolayca enfekte edebilmektedir. Önlenebilir ve tedavi edilebilir bir hastalık olmasına rağmen, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre her yıl yaklaşık 10 milyon kişinin tüberküloz/verem hastalığına yakalandığı ve 1.5 milyon kişinin ise tüberkülozdan hayatını kaybettiği belirtilmektedir. Dünya nüfusunun yaklaşık dörtte birinin verem bakterileriyle enfekte olduğu tahmin edilmektedir [2]. Ülkemizde tüberküloz hastalığının kontrolü için ilk olarak 1918 yılında İzmir'de Verem Savaş Derneği kurulmuş yıllar içinde verem savaş dernekleri, verem savaş dispanserleri, senatoryum hastaneleri gibi sağlık kuruluşlarının sayıları artmış ve 24 Nisan 1930 tarih ve 1593 sayılı Umumi Hıfzıssıhha Kanunu ile tüberküloz hastalarının izolasyonu ve bildiriminin mevzuatı oluşturularak yıllar içerisinde konunun önemine istinaden ülkemizdeki uygulama ve eğitim alanları genişletilmiştir [1].

Tüberkülozu önlemek üzere uygulanmakta olan Bacillus Calmette-Guerin (BCG) aşısının üretimi ve kontrolü için uluslararası gereklilikler ilk olarak DSÖ Biyolojik Standardizasyon Uzman Komitesi (The WHO Expert Committee on Biological Standardization-ECBS)`nin on üçüncü raporunda ele alınmış, komitenin on sekizinci toplantısında ise gereklilikler onaylanarak rapora Ek 1 olarak sunulmuştur [3]. 1974 yılında DSÖ`nün Genişletilmiş Bağışıklama Programına girmesinin ardından, BCG aşısı kısa süre içinde tüberküloz için endemik olan ülkelerde uygulanmaya başlanmış ve yıllar içinde, üretim için orijinal aşı suşundan farklı BCG aşı tohum suşları da geliştirilmiştir. Dünya çapında kullanılan BCG aşı suşlarının genetik ve fenotipik özellikleri nedeniyle bebeklere ve çocuklara verildiğinde, reaktojenite ve immünojenisite profilleri açısından farklılıklar gösterebildiği belirtilmekte, ayrıca çeşitli alt türler, üretim süreçleri, aşılama programları ve çevresel mikobakteriler ile virülan *M. tuberculosis* enfeksiyonuna maruz kalma

seviyelerindeki farlılıklar doğrultusunda BCG aşılarının yetişkin popülasyonlarda farklı koruyucu etkinlik seviyelerinin olduğu da bildirilmektedir. Ancak verilerin suşlara dair bir tercih belirlemede yeterli olmadığı bununla beraber dünyada en yaygın kullanılan aşı türlerinin Danimarka 1331, Tokyo 172-1 ve Rus BCG-I olduğu belirtilmektedir [3].

Orijinal BCG aşı suşu, daha önce Paris Pasteur Enstitüsü tarafından dağıtılmış ve standartlaştırılmamış farklı kültür koşulları kullanılarak farklı ülkelerde alt kültürleri elde edilmiştir. Yıllar içinde, BCG aşı suşunun on-dörtten fazla alt türü geliştirilmiş ve dünyanın farklı bölgelerinde BCG aşı suşları olarak kullanılmıştır. Son zamanlarda, çeşitli alt türler genomik olarak karşılaştırmalı incelenmiştir. Böylelikle BCG aşısı suşları, "otantik Pastör" ün orijinal özelliklerinin, "geç" suşlara göre basil genomunda daha az delesyon, insersiyon ve mutasyonla korunduğu "erken" suşlara bölünmüştür. "Erken" suşlar BCG Russia BCG-I, BCG Moreau-RJ, BCG Tokyo 172-1, BCG Sweden ve BCG Birkhaug tarafından temsil edilmekte; "geç" suşlar arasında BCG Pasteur 1173P2, BCG Danish 1331, BCG Glaxo (Kopenhag 1077) ve BCG Prag yer almaktadır. BCG Pasteur 1173P2'nin "geç" bir suş olarak ve BCG Tokyo 172-1 ve BCG Moreau'nun "erken" suşlar olarak genomik sekansları belirlenmiştir. İnsanlarda tüberküloza karşı koruma sağlamak için çeşitli BCG alt türlerinin etkililiklerinde önemli ölçüde farklılık gösterdiğine dair yeterli doğrudan kanıt bulunmadığı bununla birlikte, hayvan ve insan çalışmalarından elde edilen kanıtların, farklı BCG aşı suşlarının neden olduğu bağışıklık yanıtlarında farklılıklar olduğunu gösterdiği belirtilmiştir [3].

Uygulamada, BCG tohum partilerinden hazırlanan bir ürün, genellikle insanlarda uygun bir tüberkülin duyarlılığı ve aşılama sonrası oluşabilecek lezyonları minimalize ederek, ürün kalitesi ve üretim özellikleri için araştırılmaktadır. Belirli bir BCG aşısı dozu ile aşılanmış kişilerde oluşacak tüberkülin duyarlılığı, tüberkülin reaksiyonlarının uygun boyut dağılımı ile ölçülmesi ve bunun için düşük bir tüberkülin dozunun kullanılması [ör. *M. tuberculosis*'in saflaştırılmış protein türevi (Purified Protein Derivative/PPD) için Birinci DSÖ Uluslararası Standardının 5 IU'suna veya Tween 80 ile bir PPD RT23 serisinin 2 tüberkülin birimine (Tuberculin Unit/TU) eşdeğer] önerilmektedir. Güncel olarak BCG aşıları için alt diziye özgü üç referans suşu mevcut olup bunların: BCG Danish 1331, Tokyo 172-1 ve Russian BCG-I olduğu belirtilmektedir [3].

BCG aşısı uzun yıllardır mevcut olup ulusal çocukluk aşılama programının bir parçası olan ülkelerde yeni doğan ve bebeklerde en yaygın kullanılanlar arasında yer alır. BCG aşısının, çocuklarda menenjite ve yayılmış tüberküloza karşı belgelenmiş koruyucu etkisi mevcuttur. Ancak BCG aşısının birincil enfeksiyonu ve toplumdaki basiller yayılmanın başlıca kaynağı olan gizli pulmoner enfeksiyonun yeniden aktivasyonunu engelleyememesi nedeniyle BCG aşılamasının *M. tuberculosis*`in bulaşması üzerindeki etkisinin sınırlı olduğu belirtilmektedir. *M. tuberculosis* ve insan konakçı arasındaki biyolojik etkileşim karmaşık olup mikobakteriyel immünoloji ve genomik gibi alanlardaki son gelişmeler, çok sayıda yeni deneysel aşı üzerinde araştırmayı teşvik etmiştir [2,4].

Bu makalede, BCG aşısı üretimi ve kalite kontrolü için temel gerekliliklere güncel bir bakış sunulmaktadır.

BCG Aşısı Üretimi

BCG aşı üretiminin (başlangıç materyallerinin kabulünden bitmiş ürün sevkiyatına kadar) pilot üretimi de kapsayacak şekilde kalite yönetim sistemi gözetim ve denetiminde, İyi İmalat Uygulamaları-İİU (Good Manufacturig Practices-GMP) sertifikalı tesislerde yapılması ve üretimde aşağıdaki hususlara dikkat edilmesi gerektiği belirtilmektedir [3-6].

- Aşı üretiminde kullanılan BCG alt dizisi (bir tohum serisi şeklinde muhafaza edilir), Calmette ve Guérin tarafından muhafaza edilen orijinal suştan türetilmeli, orijini ve sonraki manipülasyonu içeren tarihi kayıtlarla tanımlanmalıdır.
- Kültürler, biyokimyasal ve hayvan testleri temelinde BCG tohum serisi, BCG'ninkilere uymalı ve genellikle diğer mikobakterilerden farklı özellikler göstermelidir.
- Tanıma (kimlik) testi, kullanılan spesifik BCG alt sistemini tanımlamak için moleküler biyoloji teknikleriyle desteklenmeli, tohum serisi, kolonilerin morfolojik görünümünde tutarlılık ve seri alt kültürde genetik stabilite göstermelidir. Ayrıca, çocuklara ve yetişkinlere intradermal enjeksiyon yoluyla uygulandığında; tüberkülin duyarlılığı dahil olmak üzere *M. tuberculosis* antijenlerine ilgili immünolojik yanıtları indükleyen ve düşük sıklıkta istenmeyen etkilere sahip aşılar ürettiği gösterilmelidir.
- Tohum serisinin, koruyucu etki testlerinde deney hayvanlarında tüberküloza karşı yeterli koruma sağladığı da gösterilmelidir.

Biyolojik ürünlerin gücünü değerlendirmek için bir ürünün aktif bileşen (ler) inin canlı bir biyolojik sistem içinde değerlendirilmesi bir etki ölçüsü sağlayabilir. Biyolojik testler, *in vivo* hayvan çalışmalarını, *in vitro* organ, doku veya hücre kültürü sistemlerini veya bunların herhangi bir kombinasyonunu içerebilir. Bir biyolojik üründe beklenen etkililiğin ve güvenliliğin gösterilmesi için kalite kontrol testleri yapılmakta, bunlar arasında hayvan testleri esas olarak ürünlerin potensini ve toksisitesini değerlendirmede kullanılmaktadır [7]. İnsanlarda tüberkülin duyarlılığı ve laboratuvar hayvanlarında koruyucu potansiyele sahip aşılar ürettiği gösterilen BCG tohum serilerinin insanlarda tüberküloza karşı etkili koruma sağlayacağına dair bazı kanıtların mevcut olduğu ve tüberkülin duyarlılığının, hücre aracılı mikobakterilere verilen bağışıklık yanıtları için bir belirteç olduğu, ancak koruyucu bağışıklığın doğrudan bir göstergesi olmadığı belirtilmektedir. Araştırma amacıyla bir dizi alternatif laboratuvar testi geliştirilmiş ancak bunların farklı aşıların uygulanmasının ardından koruyucu immün dönüşümün güvenilir göstergeleri olarak kullanılabileceği henüz kanıtlanmamıştır. Hayvanlarda yapılan çalışmaların; koruma testlerini, aşılama lezyonlarının testlerini ve tüberkülin dönüşümü testlerini içermesi gerektiği, bağışıklık kazandırma etkinliğinin virülan *M. tuberculosis* ile bir yüklemeye karşı test hayvanlarına sağlanan koruma derecesi açısından ölçülmesi gerektiği belirtilmektedir. Hassaslaştırıcı etkililik için

kobaylarda negatif bir tüberkülin reaksiyonunu pozitif olana dönüştürecek ortalama aşı dozuyla ve ayrıca reaksiyon süresiyle ölçülmesinin gerekliliği belirtilmekte ve bu hayvan testlerinde, hayvanlarda ve insanlarda etkili olduğu bilinen bir tohum serisinden hazırlanan bir kurum içi referans BCG aşısının karşılaştırma amaçları için dahil edilmesi tavsiye edilmektedir. Hali hazırda, BCG aşısının klinik etkililiği ile doğrudan ilişkili bir biyobelirtecin bulunmadığı ve tutarlı partilerin üretimini sağlamak için yukarda belirtilenlerin tavsiye edildiği bildirilmektedir. Ayrıca üretim ve kontrollerde aşağıda listelenenlerin yapılması önerilmektedir [3,5,7-9];

- Seri kontrolünde, toplam bakteri içeriğinin tahmininde kültürlenebilen bakteri sayısı için testler mevcut olmakla beraber, toplam bakteri içeriği ve tüm aşılar için kültürlenebilir bakteri sayısı için tek bir gereklilik belirlemenin mümkün olmayacağı farklı alt sınıflar ve üretim yöntemlerinin bu parametreler için farklı özellikler gösterebileceği bilinmektedir. Örneğin, tek bir insan dozundaki kültürlenebilir bakteri sayısı farklı aşılar için farklılık gösterse de, bu aşılar tüberküline yeterli duyarlılığı indükleme kabiliyetleri ve güvenlilikleri açısından tatmin edici özellikler gösterebilir. Bu nedenle, belirli bir ürün için uygun toplam bakteri içeriğini ve kültürlenebilir partikül sayısını tahmin etmek için insanlarda doz optimizasyonu amacıyla klinik çalışmaların yürütülmesi önemlidir.
- Belirli bir aşıda, kültürlenebilir partikül sayısı için alt ve üst spesifikasyon arasındaki farkın dört kattan fazla olmamasına ilaveten aşıların güvenliliği ve etkililiğinin ulusal düzenleyici otoritenin kuralları doğrultusunda kanıtlayacak hayvan deneylerinin yapılması gerekliliği ortaya çıkmaktadır.
- Dondurularak kurutulmuş BCG aşısı, deri içi enjeksiyon için tasarlanmış, BCG olarak bilinen Calmette ve Guérin basil kültüründen türetilen canlı bakterileri içeren dondurularak kurutulmuş bir preparattır. Üretici tarafından benimsenen BCG aşılarının hazırlanması ve test edilmesine yönelik standart çalışma prosedürlerinin detayları, her üretim adımının uygun doğrulamasının kanıtları ile birlikte ulusal düzenleyici otorite onayına sunulmalı ve BCG aşısının üretimi, nakliyesi ve depolanması konusunda yeterli kontrolün sağlandığına ilişkin kayıtlar tutulmalıdır.
- Üretim tutarlılığını desteklemek için yeterli ve tatmin edici veriler sağlanmalı, bununla birlikte, ürünün bir kaç farklı serisi randomize çalışmalarda kullanılmalı ve benzer popülasyonlarda karşılaştırılabilir bağışıklık tepkileri ortaya çıkarılmalıdır.
- Üretim tutarlılığını belirlemede dikkate alınması gereken veriler, test edildiğinde ardışık aşı serileriyle elde edilen sonuçları içermelidir (ör. canlı bakteri testi ve termal stabilite testi). Belirli bir üreticiden alınan veya yeni bir üretim yönteminden kaynaklanan herhangi bir aşı kullanıma sunulmadan önce ikiden fazla ardışık aşı serisinin hazırlanmış olması, sonraki rutin üretimde, belirli bir aşı serisi oranı veya belirli sayıda ardışık aşı serisi gereksinimlerini karşılamalıdır.

- BCG, güneş ışığına karşı hassas olup aşının hazırlanması için prosedürler, tüm kültürler ve aşılar, aşı uygulanıncaya kadar üretim, test ve depolamanın tüm aşamalarında doğrudan güneş ışığından ve morötesi ışıktan korunacak şekilde tasarlanmalıdır.
- BCG aşısı, diğer bulaşıcı ajanlarla çalışmayan sağlıklı kişilerden oluşan bir personel tarafından üretilmeli; özellikle, virülan *M. tuberculosis* suşları ile çalışmamalı ve bilinen bir tüberküloz enfeksiyonu riskine maruz kalınmamalıdır.
- BCG aşısının hazırlanmasında çalışanların verem olmadığı tıbbi muayene ile izlenmeli ve kayıtları tutulmalıdır.
- Aşı üretimi tohum seri sistemine dayalı olmalıdır. Ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanan bir suştan hazırlanan bir tohum serisinden hazırlanmalıdır.
- Kullanılan BCG aşı suşu, kökeni ve sonraki manipülasyonu hakkında bilgi içeren geçmiş kayıtlarla tanımlanmalıdır. Ana tohum serisinin, ticari prosesi temsil eden bir üretim prosesi ile bundan türetilen bir parti üzerinde klinik çalışmalar yoluyla klinik olarak kanıtlanmış korumaya sahip olması tercih edilmelidir.
- Üretimde tutarlılığın sağlanmasına yardımcı olmak için laboratuvarda kurum içi referans olarak klinik olarak «doğrulanmış» bir tohum serisinden türetilen bir partinin kullanılması da tavsiye edilir. Bir çalışma tohum serisi kullanılıyorsa, tek bir üretim hasadı için toplam geçiş sayısı, çalışma tohum serisini hazırlamak için gerekli geçişler dahil olmak üzere 12'yi geçmemelidir.
- Tüm ana ve çalışma tohum serileri, hayvan bulaşıcı süngerimsi ensefalopatilerin bulaşma risklerini en aza indirmek için mevcut kılavuzlara uygun olmalıdır. Aşı üretimi bakteri tohum seri sistemine dayanmalıdır. Çalışma tohum serisi, ana tohum serisinden çıkarılmış ve tam olarak karakterize edilmiş beş pasajdan fazla olmamalıdır. Aşılar, pasajlara daha fazla müdahale olmadan, çalışma tohum serisinden yapılmalıdır.
- Tohum serisi dondurularak kurutulmuş ya da dondurulmuş halde muhafaza edilmeli ve her seri ayrı ayrı saklanmalıdır. Tohum serileri dondurularak kurutulmuş ise -20 °C'nin altında, dondurulmuş ise -80 °C'nin altındaki bir sıcaklıkta sürekli tutulmalıdır.
- Tohum serisinde; antimikrobiyal duyarlılık testi, gecikmiş aşırı duyarlılık testi, tanıma testi, bakteriyel ve mantar kontaminasyonu testi, virülan mikobakterilerin yokluğu testi, dermal reaktivite testi yapılmalıdır.

BCG aşı üretim kültür ortamı, insanlarda toksik veya alerjik reaksiyonlara neden olduğu bilinen hiçbir madde içermemelidir. Hayvan kaynaklı materyal kullanımı tavsiye edilmemekle birlikte, aşı üretiminde kullanılan sığır, koyun veya keçi kökenli herhangi bir bileşenin kaynağının kabul

edilebilirliği ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanmalıdır. Bu bileşenler, hayvan bulaşıcı süngerimsi ensefalopatileri ile ilgili olarak güncel DSÖ kılavuzlarına uygun olmalıdır [10-11].

Üretimin kontrolünde ilgili uluslararası dokümanlara göre aşağıda belirtilenlerin yapılması önerilmektedir [3,7-9];

- Tüm kültürler görsel olarak incelenmeli ve karakteristik olmayan bir şekilde çoğalan hiçbir kültür aşı üretimi için kullanılmamalıdır.
- Final bulk/yığın, tek bir hasattan veya birkaç tekli hasattan toplanarak hazırlanmalıdır.
- Final bulkta/yığında bakteriyel ve mantar kontaminasyonu testi, virülan mikobakterilerin yokluğu testi, bakteriyel konsantrasyon testi, final bulka/yığına eklenen maddelerin testi yapılmalıdır.
- Dondurarak kurutma işleminin etkinliğini artırmak veya dondurularak kurutulmuş ürünün stabilitesine yardımcı olmak için eklenen maddeler steril ve yüksek ve tutarlı kalitede olmalı ve aşıda uygun derişimlerde kullanılmalıdır.
- Biyolojik ürünler için İyi İmalat Uygulamaları-İİU prensiplerine, doldurma ve kaplarla ilgili genel şartlara son formda doldurulan aşılar uygun olmalıdır.
- Bitmiş üründe; fiziksel muayene, tanıma, bakteriyel ve mantar kontaminasyonu testi, virulan mikobakterilerin yokluğu testi, bakteriyel konsantrasyon testi (opasite), artık nem miktarı, kültüre edilebilir bakteri sayısı (potens), termal stabilite testi genel testler olarak belirtilebilir.
- Biyolojik ürünler için İİU tavsiyeleri geçerli olmalıdır. Tüm tohum serilerinin, aşı üretimine yönelik tüm kültürlerin, tüm tekli hasatların, tüm nihai toplu aşıların ve sonuçlarına bakılmaksızın tüm testler dahil olmak üzere imalat kuruluşları tarafından üretilen nihai kaplarındaki/primer ambalajlarındaki tüm aşıların yazılı kayıtları tutulmalıdır. Kayıtlar, ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanan türde olmalıdır.
- DSÖ'nün BCG aşılarının kalitesini, güvenliliğini ve etkililiğini sağlamak için yayınlamış olduğu teknik raporuna göre; numunelerin, serinin son kullanma tarihinden sonra en az bir yıl süreyle saklanması tavsiye edilir. Her kabın/primer ambalajın üzerine basılan veya yapıştırılan etiket ve/veya ambalaj eki, seyrelticinin hacmini ve yapısını göstermelidir. Ayrıca, bu etiket veya birkaç son kabı tutan karton üzerindeki etiket veya kaplara eşlik eden broşür aşağıdaki ek bilgileri taşımalıdır:
    - Aşının bu belgenin gerekliliklerini karşıladığını,
    - Aşının kullanım talimatları, aksi tesirler/kontrendikasyonlar ve aşılamadan sonra olabilecek reaksiyonlarla ilgili bilgiler,

- Aşıyı sulandırmak için eklenecek seyrelticinin hacmi ve yapısı, yalnızca üretici tarafından sağlanan seyrelticinin kullanılması gerektiği,
- Etikette belirtilenden daha yüksek sıcaklıklara maruz kaldığında aşının stabilitesinin azalmasına ilişkin bilgilerle birlikte saklama ve nakliye sırasında tavsiye edilen koşullar,
- Aşının doğrudan güneş ışığından korunması gerektiğine dair uyarılar,
- Sulandırılmış aşının mümkün olan en kısa sürede kullanılması veya 2–8 °C'de saklanması, doğrudan güneş ışığından korunarak 6 saat içinde kullanılması gerektiğine dair bir ifade,
- Antimikrobiyal duyarlılık hakkında bilgiler,
- Seyrelticinin etiketinde "BCG aşısı için yeniden yapılandırma sıvısı (tescilli adı)" yazmalıdır.

• Dağıtım ve nakliyede, biyolojik ürünler için İİU kapsamında verilen tavsiye, zamana ve sıcaklığa duyarlı farmasötik ürünlerin depolanması ve taşınması için model kılavuzunda verilmiştir. Numunelerin son serisinin son kullanma tarihinden sonra en az bir yıl süreyle saklanması tavsiye edilir.

BCG Aşısı Bitmiş Ürün Kalite Kontrol Testleri

BCG aşısı bitmiş ürün kalite kontrol testleri ürünün etkililik ve güvenliliğinin kontrolü için son basamak işlemler olup, ürün raf ömrü boyunca sağlaması gereken kalitesinin göstergesi olan kritik kontrol parametreleridir [5,6]. Avrupa Farmakopesi ve adaptasyonunu içeren Türk Farmakopesi ile DSÖ'nün BCG aşılarının kalitesini, güvenliliğini ve etkililiğini sağlamak için öneriler teknik raporuna göre gerekli olan testler aşağıda Tablo 1`de yer almaktadır [3,8-9].

Tablo 1. BCG aşılarının bitmiş ürün kalite kontrol testleri [3,8-9].

BCG Aşıları Kalite Kontrol Testleri		
Test	**Yöntem**	**Referans**
BCG aşısı potens testi	Koloni oluşturan birim (Colony Forming Unit-CFU) yöntemi	WHO TRS 979 Ek-3 EP-01/2012:0163 / TFA-01/2017:80008
BCG aşısı termal kararlılık (heat stability) testi	Koloni oluşturan birim (Colony Forming Unit-CFU) yöntemi	WHO TRS 979 Ek-3 EP-01/2012:0163 / TFA-01/2017:80008
BCG aşısı virülent mikobakterium yokluğu testi	*İn vivo* biyolojik yöntem	WHO TRS 979 Ek-3 EP-01/2012:0163 / TFA-01/2017:80008
BCG aşısı opasite testi	Spektrofotometrik yöntem	WHO TRS 979 Ek-3 EP-01/2012:0163 / TFA-01/2017:80008
BCG aşısı tanıma testi	Mikroskobik yöntem	WHO TRS 979 Ek-3 EP-01/2012:0163 / TFA-01/2017:80008
Sterilite testi	Membran filtrasyon yöntemi	EP-04/2011:20601 / TFA-01/2017:20143
Artık nem miktar tayini	Kurutmada kayıp yöntemi	EP-07/2019:20232 TFA-01/2017:20038
Fiziksel muayene	Görünür partikül yöntemi	EP-01/2020:20920 / TFA-01/2017:20241
Dermal reaksiyon testi	*İn vivo* biyolojik yöntem	WHO TRS 979 Ek-3 EP-01/2012:0163 / TFA-01/2017:80008

SONUÇ

Önlenebilir ve tedavi edilebilir bir hastalık olmasına rağmen, dünya nüfusunun yaklaşık dörtte birinin verem bakterileriyle enfekte olduğu tahmin edilmekte ve DSÖ verilerine göre her yıl milyonlarca kişi tüberküloz hastalığından etkilenmektedir. DSÖ`nün Genişletilmiş Bağışıklama Programında yer alan ülkelerde bağışıklama programlarında yer alan BCG aşısı için orijinal aşı suşundan farklı BCG aşı tohum suşları zaman içinde üretilmiştir. Günümüzde üretiminin güncel DSÖ kılavuzlarına uygun olarak yapılması; hammaddelerin kontrolü ve izlenmesi, üretim süreçlerinin yeterliliği, kalite kontrol yöntemleri ve spesifikasyonlarının uygunluğu, bitmiş ürünlerin kontrolüne bağlı olan kalite güvence önlemlerinin gerekliliği vurgulanmaktadır. Kalite kontrol testleri ile aşıların güvenliliği, etkililiği, tekrarlanabilirliği ve tutarlı şekilde yeniden üretilebilirliği sağlanmaktadır. Bu nedenle aşı üretiminde güncel kılavuzların ve kalite kontrol yöntemlerinin uygulanması aşının etkililik ve güvenliliği açısından önem arz etmektedir.

KAYNAKÇA

[1] Tüberküloz tanı ve tedavi rehberi, 2. Baskı. TC Sağlık Bakanlığı, Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Tüberküloz Dairesi Başkanlığı, Ankara, 2019.

[2] World Health Organization, Tuberculosis. 12 Ekim 2020 tarihinde https://www.who.int/health-topics/tuberculosis adresinden erişildi.

[3] World Health Organization, Annex 3: Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of BCG vaccines, 12 Ekim 2020 tarihinde https://www.who.int/biologicals/areas/vaccines/TRS_979_Annex_3.pdf adresinden erişildi.

[4] World Health Organization, Tuberculosis vaccine development (2020, 16 Ocak). 12 Ekim 2020 tarihinde https://www.who.int/immunization/research/development/tuberculosis/ en/ adresinden erişildi.

[5] World Health Organization, Regulation and quality control of vaccines (2017, 07 Aralık). 12 Ekim 2020 tarihinde https://www.who.int/biologicals/vaccines/regulation_and_ quality_control_vaccines/en/ adresinden erişildi.

[6] Özdemirhan ME, Büzkaya H, Bozyiğit İ, Yurdasiper A, Tuna Yıldırım S, Alğın Yapar E. Biyofarmasötik ürünlerin etkililik ve güvenlilik kontrolünde kullanılan in vivo testler. Türk Farmakope Dergisi 2020; 5(3): 68-79.

[7] World Health Organization, Good manufacturing practices for biological products (WHO Technical Report Series, No. 822, 1992, Annex I).

[8] Avrupa Farmakopesi 10.2, Avrupa İlaç Kalite ve Sağlık Bakım Direktörlüğü (EDQM), Strazburg, 2020. BCG aşısı, dondurularak-kurutulmuş, 01/2012:0163.

[9] Türk Farmakopesi 2017, TC Sağlık Bakanlığı, Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, Ankara, 2017.

[10] Guidelines on transmissible spongiform encephalopathies in relation to biological and pharmaceutical products. Geneva, World Health Organization, 2003 (WHO/BCT/QSD/03.01).

[11] Requirements for the collection, processing and quality control of blood, blood components and plasma derivatives. (Requirements for Biological Substances No. 27, revised 1992). In: WHO Expert Committee on Biological Standardization. Forty-third report. Geneva, World Health Organization, 1994 (WHO Technical Report Series, No. 840).

T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE İLAÇ VE TIBBİ CİHAZ KURUMU

DERLEME MAKALESİ

Türk Farmakope Dergisi 2020, 5(4): 45-57

© Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu 2020

KIZAMIK AŞISININ GÜNCEL KALİTE KONTROL GEREKLİLİKLERİ

İlhan BOZYİĞİT, Safiye KARAGÖZLÜ, Mehmet Emre ÖZDEMİRHAN, Evren ALĞIN YAPAR*

T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, Analiz ve Kontrol Laboratuvarları Dairesi Başkanlığı, 06430, Sıhhiye-Ankara.

elmek*: evren.yapar@yahoo.com

Geliş tarihi: 22.10.2020 / Kabul tarihi: 20.11.2020

ÖZET

Kızamık enfeksiyonu ortalama 10-12 gün süren bir kuluçka döneminden sonra yüksek ateş, öksürük ve burun akıntısı ile seyreden sıklıkla konjonktivit ve bronşitin eşlik ettiği *Paramyxoviridae* ailesinden morbillivirus alt-grubuna ait virüs kaynaklı bir hastalıktır. Dünya genelinde her yıl milyonlarca vaka ve ölümlerin görüldüğü bu enfeksiyonun önlenmesinde kızamık aşısı son derece etkilidir. Kızamık aşısının üretimi ve kontrolü için uluslararası gereklilikler Dünya Sağlık Örgütü dokümanları ve farmakopelerde yer almakta olup aşı üretimi, başlangıç materyallerinin kabulünden bitmiş ürün sevkiyatına kadar, pilot üretimi de kapsayacak şekilde kalite yönetim sistemi gözetim ve denetiminde, İyi İmalat Uygulamalarına göre gerçekleştirilmeli ve kalite gereklilikleri test edilmelidir. Bu makalede, kızamık aşısı üretimi ve kalite kontrolü için temel gerekliliklere güncel bir bakış sunulmaktadır.

Anahtar kelimeler: Kızamık, Kızamık aşısı, Kalite kontrol testleri, Farmakope, DSÖ.

CURRENT QUALITY CONTROL REQUIREMENTS OF MEASLES VACCINE

ABSTRACT

Measles infection is a viral disease of the morbillivirus sub-group of the *Paramyxoviridae* family, often accompanied by conjunctivitis and bronchitis, with high fever, cough and nasal discharge

after an incubation period of 10-12 days. Measles vaccine is extremely effective in preventing this infection, where millions of cases and deaths are seen worldwide every year. International requirements for the production and control of measles vaccine are contained in the documents and pharmacopoeias of the World Health Organization, and the production of vaccines should be carried out in accordance with Good Manufacturing Practices and quality requirements should be tested under the supervision and inspection of the quality management system, including pilot production, from the acceptance of starting materials to the shipment of finished products. This article provides an up-to-date overview of the essential requirements for measles vaccine manufacture and quality control.

Keywords: *Measles*, Measles vaccine, Quality control tests, Pharmacopoeia, WHO.

GİRİŞ

Kızamık etkeni *Paramyxoviridae* ailesinden morbillivirus alt-grubuna ait, 100-250 nm çapında, zarflı, bölümlenmemiş bir RNA virüsüdür. Kızamık virüsü, viral yüzeyde iki zarf glikoproteine, hemaglutinin (H) ve membran füzyon proteinine (F) sahiptir. Bu proteinler, konakçı hücre bağlanması ve istilasından sorumludur. H proteini, reseptör bağlanmasına aracılık eder ve F proteini, viral zarf ve hücre zarının füzyonuna neden olur. Virüsün hayvan rezervuarı ve vektörü yoktur. Bir antijenik tipi vardır. Prodromal dönem esnasında ve döküntünün ortaya çıkmasından sonra kısa bir süre nasolaringeal salgılardan, kandan ve idrardan virüs izole edilebilir. Virüs çok dayanıksızdır ve ısı, ultraviyole (morötesi), eter ve kloroform gibi lipit çözücülerle ve ileri derecedeki asit (pH<5) ve alkali (pH>10) ile etkisiz hale getirilebilir. Oda sıcaklığında en az 34 saat aktif olarak kalmaktadır [1,2].

Kızamık virüsü ilk kez 1954 yılında Enders ve Peebles tarafından doku kültürlerinde üretilmiştir. Bu suş Edmonston suşu olarak adlandırılmış ve tüm dünyada halen kullanılan aşıların geliştirilmesinde kullanılmıştır. Kızamık virüsünün indüklediği immün yanıt çeşitli yöntemlerle ölçülebilirse de kızamıkta oluşan immün yanıt/reaksiyon oldukça karmaşıktır. Hem hücresel, hem de hümoral yanıt oluşmaktadır. T hücre yanıtı genellikle enfeksiyonu izleyen bir kaç ay içinde saptanabilir düzeyin altına düştüğünden immün duruma ilişkin güvenilir bilgi vermez. B hücre yanıtında ortaya çıkan antikorlar IgA, IgM ve IgG sınıfında olup IgM serumda kısa bir süre için bulunmakta IgA'nın da koruyucu açıdan hayati önemi olmadığı belirtilmektedir. Bu doğrultuda pasif korunmanın IgG tarafından sağlanması gerekmektedir [1,2].

Kızamık enfeksiyonu ortalama 10-12 gün süren bir kuluçka döneminden sonra yüksek ateş, öksürük ve burun akıntısı ile seyreden 2-4 günlük bir prodrom dönemiyle başlamakta, sıklıkla konjonktivit ve bronşit eşlik etmektedir. Hastada başlangıçta döküntü mevcut olmayıp bu dönem oldukça bulaşıcıdır. Sert, kuru bir öksürük ateşle birlikte başlar ve komplike olmayan vakalarda 1-2 hafta

devam eder. Bu öksürük genellikle en son kaybolan belirtidir. Kızamık aşısı son derece etkilidir, tüm dünyada yılda 80 milyon vaka ve 4.5 milyon ölümü önlediği düşünülmektedir. Buna rağmen aşılama oranlarının her yerde yüksek olmaması nedeniyle kızamık hastalığının tüm dünyada her yıl milyonlarca vakaya ve ölüme neden olduğu tahmin edilmektedir. Yılda yaklaşık 2.4 milyon çocuk ölümüne neden olan çocukluk çağındaki aşı ile korunulabilir hastalıklar arasında kızamık yaklaşık %30 oranı ile ilk sırayı almaktadır. Kızamık aşısı 1960'lı yıllardan beri kullanılmakta ve Dünya Sağlık Örgütü-DSÖ (World Health Organization-WHO), kızamık aşısının kontrendike olmadığı tüm duyarlı çocuklar ve yetişkinler için aşılamayı önermektedir [3,4,5]. Bağışıklama programlarında yer alan kızamık aşısının üretimi ve kalite kontrolü beşeri aşılar arasında önemli olup bu makalede kızamık aşısı ve güncel kalite kontrol yöntemleri hakkında bilgiler yer almaktadır.

Kızamık Aşısı

Kızamık virüsü ilk kez 1954 yılında Enders ve Peebles tarafından doku kültürlerinde üretilmiş ve Edmonston suşu olarak adlandırılmış olup tüm dünyada uygulanmakta olan aşıların geliştirilmesinde kullanılmıştır. Bu suştan başlangıçta iki kızamık aşısı geliştirilmiş, birisi primer böbrek hücrelerinde ve insan amniyon hücrelerinde pasajdan sonra civciv embriyo hücrelerine adapte edilerek zayıflatılması/atenüasyonu sağlanan canlı Edmonston-B, diğeri de aynı virüsün formaldehit ile etkisizleştirilmesi işlemi ile hazırlanan ölü kızamık aşısıdır. Edmonston-B aşısının yan etkilerinin fazla olması nedeniyle IgG preparatları ile birlikte yapılması önerilmiş, ancak her iki aşının da indüklediği bağışıklık/immünite yetersiz ve kısa süreli bulunmuştur. Ayrıca etkisizleştirilmiş kızamık aşısının yapılmasından sonra atipik kızamık sendromunun ortaya çıkması nedeniyle de etkisizleştirilmiş kızamık aşısı 1961 yılından sonra uygulamadan çıkarılmıştır. Edmonston-B suşunun civciv embriyo hücrelerinde çoklu pasajlarla daha fazla zayıflatılması/atenüasyonu ile 1968 yılında Moraten suşu, Edmonston-A suşunun daha fazla zayıflatılması/atenüasyonu ile de 1965 yılında Schwarz suşu üretilmiştir. Sonraki yıllarda Edmonston suşunun civciv embriyo hücrelerinde zayıflatılması/atenüasyonu ile AIK-C aşısı, Edmonston-B suşunun insan diploit hücrelerinde atenüasyonu ile de Yugoslavya'da Edmonston Zagreb aşısı üretilmiştir. Bunların dışında çeşitli ülkelerde izole edilen virüslerden Doğu Avrupa Ülkelerinde ve Çin'de kullanılan CAM-lO, Leningrad-16 ve Shanghai-191 gibi aşılar da üretilmiştir. Son dönemlerde elde edilen aşılar bağışıklık bakımından karşılaştırıldığında, Moraten ve Schwarz aşıları aynı yaş grubuna uygulandığında benzer serokonversiyon (kanda özgül antikorların görülmesi) oranları oluşturdukları tespit edilmiş, ancak yüksek titreli Edmonston Zagreb aşısının 4-6. aylarda yapıldığında 9. ayda yapılan Schwarz aşısına eşdeğer serokonversiyon sağladığı bulunmuştur. Ayrıca AIK-C aşısının küçük çocuklarda Schwarz aşısına göre daha fazla serokonversiyon oluşturduğu yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir [2].

Kızamık aşısı için gerekli etkililik ve stabilite DSÖ tarafından belirlenmiştir. Her bir doz aşı en az 1000 $TCID_{50}$ (Median Tissue Culture Infectious Dose/Doku Kültürünün Yarısını Enfekte Eden Doz) içermesi gerektiği belirtilmiştir. Günümüzde Schwarz, Moraten ve Edmonston Zagreb suşlarından

geliştirilmiş tekli aşı, kızamıkçık ve kabakulağı içeren üçlü ve de kızamıkçık, kabakulak ve suçiçeğini içeren dörtlü kombine preparatlar/aşılar mevcuttur [8,10-15].

Kızamık Aşısı Üretiminde Virüs Suşunun (MSL/WSL) Belgelendirilmesi

Kızamık aşı üretiminin, başlangıç materyallerinin kabulünden bitmiş ürün sevkiyatına kadar pilot üretimi de kapsayacak şekilde kalite yönetim sistemi gözetim ve denetiminde İyi İmalat Uygulamaları-İİU (Good Manufacturig Practices-GMP) sertifikalı tesislerde yapılması ve üretimde aşağıdaki hususlara dikkat edilmesi gerektiği belirtilmektedir [7,8].

- Kızamık aşı üretimi tohum seri sistemine dayalı olmalıdır. Ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanan bir suştan hazırlanan bir tohum serisinden hazırlanmalıdır. Ana tohum serisi ve çalışma tohum serisini içeren hücre bankası oluşturulmalıdır.
- Her ana tohum veya çalışma tohum serisinin, ulusal kontrol otoritesi tarafından onaylanan bir türünün kızamığa duyarlı maymunlardaki testlerle nöropatojenik (nörovirülans) olmadığı gösterilmelidir. Ulusal düzenleyici otoritenin görüşleri doğrultusunda bu test tohum serisinden türetilen beş tutarlı seri aşıda da yapılabilir. Hayvan testlerini azaltmak amacıyla, virüs tohumu serileri büyük miktarlarda hazırlanmalıdır.
- Virüs tohumu serisi ya dondurularak kurutulmuş ya da dondurulmuş halde muhafaza edilmeli ve her seri ayrı ayrı saklanmalıdır. Dondurularak kurutulmuş ise -20°C'nin altındaki bir sıcaklıkta, dondurulmuş ise -60°C'nin altındaki bir sıcaklıkta sürekli tutulmalıdır.
- Aşı suşları, kızamık virüsünün karakterizasyonu için antikorların kullanımı da dahil olmak üzere moleküler ve serolojik yöntemlerle karakterize edilmelidir. Bu aynı zamanda hayvana aşılamayı (inokülasyon) da içermelidir. Ek olarak, en azından ana veya çalışma tohum serisinin glikoprotein ve nükleoprotein genlerinin sıralanması düşünülmelidir.
- Kızamık aşısı üretiminde kullanılan kızamık virüsü suşu; suşun kökeni, zayıflatma/atenüasyon yöntemi ve zayıflatılmanın/atenüasyonun klinik değerlendirme ile gösterildiği geçiş seviyesi hakkında bilgi içeren tarihsel kayıtlarla belirlenmelidir.
- Aşı üretiminde kullanılan kızamık virüsü suşunun, zayıflatılmış kızamık virüsü dışında herhangi bir mikroorganizma ile kontamine olmadığı, uygun laboratuvar testleriyle güvenli olduğu ve duyarlı insanlarda yapılan testlerle güvenli olduğu ve bağışıklık oluşturduğu/immünojenik olduğu gösterilmelidir. Sadece ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanmış suşlar kullanılmalıdır.
- Duyarlı bireylerde serokonversiyona/kanda özgül antikorların görülmesine neden olan aşıdaki en düşük aşılama dozajı doz-cevap çalışmasında belirlenecektir. Bu doz, aşının stabilitesi ve raf ömrünün sona ermesi parametrelerinin oluşturulması için temel oluşturacaktır.
- Nörovirülans testleri Dünya Sağlık Örgütü Teknik Rapor Serisi 840 Annex III doğrultusunda yapılmalıdır.

Kızamık Aşısı Üretimi İçin Temel Gereklilikler

Kızamık aşısı üretiminde referans kılavuz ve kaynaklar itibariyle aşağıda belirtilen hususlara dikkat edilmesi gerektiği belirtilmektedir [7,8].

- Kızamık aşısı üretimi Biyolojik Ürünler İçin İyi İmalat Uygulamalarına göre yapılmalı, bu doğrultuda aynı iş günü içinde diğer bulaşıcı mikroorganizmaları, hayvanları veya doku kültürlerini işlemeyen ayrı bir personel tarafından yapılmalıdır.
- Personel, tıbbi olarak muayene edilen ve sağlıklı olduğu tespit edilen kişilerden oluşmalıdır.
- Üretim alanlarında yer alan tüm personelin kızamığa karşı bağışıklık kazanmasını sağlamak için gerekli işlemler yapılmalıdır.
- Kızamık aşısı üretimi için sadece ulusal kontrol otoritesi tarafından onaylanan virüs tohum serisi ve hücre kültürleri üretim alanında tanıtılmalı veya işlenmelidir.
- Denetçiler dışında üretim süreçleriyle doğrudan ilgili olmayan kişilerin, geçerli bir sebep ve özel izin olmadan üretim alanına girmesine izin verilmemelidir.
- Üretim ve testten sorumlu kişilerin ve üretim tesisinde çeşitli sorumluluk alanlarına atananların eğitim ve deneyimlerine ilişkin Biyolojik Ürünler İçin İyi İmalat Uygulamalarındaki tavsiyelere uyması ve bu personelin ulusal kontrol otoritesine bildirilmesine özellikle dikkat edilmelidir.

Üretimin kontrolü için aşağıdaki kritik basamaklarda kontrol önem arz etmektedir [8-12].

Kızamık virüs suşu kontrolü; canlı kızamık aşısı üretiminde kullanılan kızamık virüsü suşu, aşı üretiminde kullanılmak üzere virüs suşunun belgelendirilmesi başlığında verilen gereklilikleri karşılamalıdır. Virüs ana ve çalışma tohum serisini de kapsayacak şekilde, her bir virüs tohumu serisi, bakteri, mantar ve mikoplazma kontaminasyon (bulaşma) için test edilmelidir. İstenmeden ortaya çıkan ajanlar için hücre kültüründe tanı ve doğrulama için polimeraz zincir reaksiyonu testi (Polymerase Chain Reaction-PCR) veya nükleik asit testi (Nucleic Acid Test-NAT) yapılmalıdır [8].

Virüs çoğaltılması için kullanılan substratlarda yapılan kontroller; Kızamık aşıları insan diploit hücreleri ve primer civciv embriyo hücreleri gibi substratlarda üretilebilir. Her bir substratın kullanılabilmesi için ilgili standart doküman ve kılavuzlarda (Türk Farmakopesi, Avrupa Farmakopesi, DSÖ Teknik Rapor Serileri) belirtilen asgari gerekliliklerle uyumlu olmalıdır [8-12].

- *Kızamık aşısı virüs çoğaltılmasında İnsan Diploit Hücre Hatları kullanılacaksa* (MRC-5,WI-38,FRhL); Ana Tohum Serisi ve Çalışma Tohum Serisini kapsayacak Hücre Banka Sistemi oluşturulmalıdır. Ana Tohum Serisi ve Çalışma Tohum Serisi EP-01/2018;50203, TFA-01/2018:50014 monograf gerekliliklerini karşılamalıdır. Her bir hücre tohum serisi, bakteri, mantar ve mikoplazma bulaşma ve istenmeden ortaya çıkan ajanlar için test edilmelidir.

- *Kızamık aşısı virüs çoğaltılmasında embriyolu tavuk yumurtasından üretilen primer hücre kültürü kullanılacaksa;* yumurtaların temin edildiği kaynak Belirlenmiş Patojenlerden Arındırılmış (Specific Patogen Free-SPF) tavuk sürülerinden olmalıdır. EP-07/2010;50202, TFA-01/2017:50013 monograf gereklilikleri karşılanmalıdır. Hücreler bakteri, mantar ve mikoplazma bulaşma ve istenmeden ortaya çıkan ajanlar için test edilmelidir.

Her iki substrat için;

- Aşı üretiminde kullanılacak hücre kültür ortamında kullanılan sığır kökenli herhangi bir bileşenin kaynağının kabul edilebilirliği ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanmış olması gerekir. Bu bileşenler, sığır bulaşıcı süngerimsi ensefalopatileri (Bovine spongiform encephalopathy/ BSE) ile ilgili olarak güncel DSÖ kılavuzlarına uygun olmalıdır. BSE, *Bovine leukosis*, bakteri, mantar ve mikoplazma yönüyle test edilmelidir. Kızamık virüs inhibitörü içermemelidir.
- İnsan serumu kullanılmamalıdır. İnsan albümini kullanılıyorsa, "Kan, Kan Bileşenleri ve Plazma Türevlerinin Toplanması, İşlenmesi ve Kalite Kontrolü için Gözden Geçirilmiş Gereklilikleri (Biyolojik Madde Gereklilikleri No. 27)" ve ayrıca insan bulaşıcı ensefalopatileri ile ilgili güncel DSÖ kılavuzlarını karşılamalıdır.
- Penisilin ve diğer beta-laktam grubu antibiyotikler, üretimin herhangi bir aşamasında kullanılmamalıdır. Neomisin gibi uygun antibiyotiklerin ise minimal derişimleri, ulusal düzenleyici otoritenin değerlendirme ve onayı ile kullanıma alınmalıdır.
- Sığır kökenli tripsin kaynağı/kaynakları kullanılırsa, ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanmış olmalıdır. Sığır tripsini kullanılacaksa, hayvan bulaşıcı süngerimsi ensefalopatileri ile ilgili olarak geçerli DSÖ kılavuzlarında belirtilen gerekliliklere uygun olmalıdır.

Kızamık Aşısı Üretiminde Kritik Aşamalar

DSÖ'nün hücre substratlarında üretilen kızamık aşısı için öneriler teknik raporuna göre, hücre kültürleri, tek virüs hasatlarının ve saflaştırılmış bulk (yığın) maddenin kontrolü için aşağıda belirtilen hususların dikkate alınması önerilmektedir [7-11]:

- Kontrol hücresi kültürler için;
  - Kontrol hücresi kültürleri, üretim hücresi kültürlerine benzer şekilde ele alınmalı, ancak yabancı virüslerin tespiti için kullanılabilmeleri için kızamık virüsü inoküle edilmemiş şekilde kalmalıdır.
  - Hemadsorbe edici virüsler için testler, kontrol hücresi sıvılarında diğer istenmeden ortaya çıkan ajanlar için testler, tanıma testi yapılmalıdır.

- *Tek virüs hasatlarının kontrolü için*; Virüs sıvıları ulusal kontrol otoritesi tarafından onaylanan bir yöntemle hasat etmelidir. Tek bir hasat, bir üretim hücre kültüründen birkaç ardışık hasadın bir kombinasyonu olabilir. Tek hasatlar genellikle kısmen veya tamamen stabilize edilir ve havuzlanana kadar -60°C'de veya altında saklanır. Hasat sırasında veya üretimin herhangi bir sonraki aşamasında antibiyotik eklenmemelidir. Sterilite ve virüs içeriği için testlerde tek hasat örnekleri alınmalı; hemen test edilmeyecek ise test yapılana kadar -60 °C'de veya altında tutulmalıdır. Sterilite ve virüs içeriği yönüyle uygun ise bir sonraki basamakta kullanılabilecektir.
- *Virüs havuzunun kontrolü için;*
  - Virüs havuzu, iki veya daha fazla tekli hasattan hazırlanmalı ve bu testler her bir hasatta önceden yapılmadığı sürece aşağıdaki testlere tabi tutulmalıdır; bu durumda bile virüs havuzu sterilite açısından test edilmelidir. Hemen test edilmeyen numuneler -60°C'de veya altında saklanmalıdır.
  - *Sterilite testleri:* Ulusal kontrol otoritesi tarafından onaylanmış bir yöntemle bakteriler, mantarlar ve mikoplazmalar yönüyle test edilmelidir.
  - *Virüs titrasyonu:* Her bir virüs havuzunun canlı virüs içeriği, hücre kültüründeki titrasyon ile belirlenmelidir.
  - *Hücre kültürlerinde nötralize edilmiş virüs havuzunun testleri:* Her virüs havuzunun en az 500 insan dozu veya 50 mL'ye eşdeğer bir hacmi olmalıdır. Belirlenen hacimden daha yüksek hacim için nötralizasyon sağlayacak spesifik antikor kullanımı ile virüs nötralize edilmeli ve hücre kültürlerine aşılanmasıyla diğer bulaşıcı etkenler için test edilmelidir.
  - Virüs havuzu, üç ila yedi günlük bir gözlem süresinin sonunda, herhangi bir başka bulaşıcı etkenin varlığına dair bir kanıt yoksa testi geçerli kabul edilir. İnoküle edilmemiş kontrol hücrelerinde bulaşıcı bir etken tespit edilirse test tekrarlanmalıdır.
- *Virüs havuzunun saflaştırılması için;*
  - Virüs havuzu, hücrelerin ve hücre kalıntılarının giderilmesini en üst düzeye çıkaracak bir yöntemle saflaştırılmalıdır.
  - Temizlenen bulk süspansiyon numuneleri, mikroskobik olarak gözlemlenebilir hücrelerin veya hücre parçacıklarının kalmamasını sağlamak için temizlemeden hemen sonra alınmalıdır. Numuneler ayrıca virüs titrasyonu ve sterilite testi için havuzdan alınmalıdır. Hemen test edilmezse, numuneler test yapılıncaya kadar -60 °C'de veya altında tutulmalıdır.

- *Sterilite testleri:* Ulusal kontrol otoritesi tarafından onaylanmış bir yöntemle bakteriler, mantarlar ve mikoplazmalar yönüyle test edilmelidir.
- *Virüs titrasyonu:* Her bir virüs havuzunun canlı virüs içeriği, hücre kültüründeki titrasyon ile belirlenmelidir.

• *Final bulk (nihai yığın) hazırlanması ve kontrolü için;* DSÖ'nün kızamık, kabakulak ve kızamıkçık aşıları ve kombine aşı (canlı) için gereklilikler teknik raporu WHO TRS 840 Annex III dokümanına göre final bulk hazırlanması ve kontrolü için aşağıda belirtilen hususların dikkate alınması önerilmektedir [7-11]:

- Final bulk, kontrol kültürleri belirtilen testleri geçtiği substratlardan elde edilen iki veya daha fazla saflaştırılmış virüs havuzundan, virüs havuzları ve virüs havuzunun saflaştırılması aşamasında belirtilen testleri geçmesi halinde hazırlanmalıdır.
- *Eklenen maddeler:* Final bulk hazırlanması sırasında ürüne eklenen seyreltici veya stabilizatör gibi herhangi bir kullanılan madde derişiminin ürünün güvenliliğini veya etkililiğini bozmadığı uygun testlerle gösterilmiş olmalıdır.
- Final bulk karışımın hazırlanmasında, sadece ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanan insan albümini ve diğer maddeler eklenmelidir. Bu tür maddelerin, kullanılan derişimde ürünün güvenliliğini veya etkililiğini bozmadığı uygun testlerle gösterilmiş olmalıdır.
- Her final bulk, biyolojik maddelerin sterilitesi için genel gereklilikleri karşılamak zorundadır.
- *Artık hayvan serum proteinleri:* Hücre kültürü sisteminde serum kullanılmışsa, final bulktan bir örnek ile serum albüminin kalıntı miktarının tek bir insan dozu başına 50 ng'den az olduğunu doğrulamak için test edilmelidir.
- *Sterilite testleri:* Ulusal kontrol otoritesi tarafından onaylanmış bir yöntemle bakteriler, mantarlar ve mikoplazmalar yönüyle test edilmelidir.
- *Depolama ve saklama koşulları:* Kaplara dağıtılana ve liyofilize oluncaya kadar, final bulk, aşının aktivitesini korumak için üretici tarafından gösterilen koşullarda saklanmalıdır.

• *Dolum ve kaplar için;* Biyolojik ürünler için İİU kapsamında verilen dolum ve kaplarla ilgili gereklilikler final formda doldurulmuş aşı için geçerli olmalıdır [7-11].

• *Final ürün üzerinde kontrol testleri için;* DSÖ'nün kızamık, kabakulak ve kızamıkçık aşıları ve kombine aşı (canlı) için gereklilikler teknik raporu WHO TRS 840 Annex III, Avrupa Farmakopesi 10.2 canlı kızamık aşısı 01/2019:0213 monografı ile Türk Farmakopesi TFA-01/2017:80074 monografına göre, final ürün üzerinde kontrol testleri için aşağıda belirtilen hususların dikkate alınması önerilmektedir [8,10,11].

- Her dolum serisinden en az bir etiketli kap/primer ambalaj üzerinde uygun bir yöntemle tanıma testi yapılmalıdır.
- Her dolum serisi, bakteri, mantar ve mikoplazma yönüyle sterilite açısından test edilmelidir. Biyolojik maddelerin sterilitesi için genel gereklilikleri karşılamalıdır.
- Her son seri, ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanan bir genel güvenlilik testi (innocuity test/zararsızlık testi) kullanılarak beklenmeyen toksisite (The Abnormal Toxicity Test/ATT) açısından test edilmelidir.
- Her dolum serisi virüs derişimi ve termostabilite yönüyle ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanan sınırlar içinde olmalıdır.
- Her son seri için, tanıma testi yapılır.
- Her dondurularak kurutulmuş serinin temsili bir örneğindeki nem kalıntısı, ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanan bir yöntemle belirlenebilir. Nem içeriğinin üst sınırı ulusal düzenleyici otorite tarafından belirtilmelidir. Genel olarak %3'ten az nem seviyeleri tatmin edici olarak kabul edilir.
- Final sulandırılmış aşıdaki sığır serum albümin seviyesinin insan dozu başına 50 ng'den az olduğunu doğrulamak için final serinin bir örneği test edilmelidir.

• *Etiketleme için;* Biyolojik ürünler için İİU kapsamında verilen öneriler aşağıdakilerin eklenmesiyle geçerli kılınmalıdır. Karton etiketi veya ürün bilgilerinde şunları içermelidir [7-8,10-11]:

- Aşının gerekliliklerini karşılama durumuna ait bir açıklama,
- Aşıda kızamık virüsünün suşunu, insan dozu başına en az enfektif birim sayısını ve aşıyı hazırlamak için kullanılan substratın kökenini belirten preparatın doğası hakkında bir açıklama,
- Aşıda bulunan herhangi bir antibiyotiğin niteliği ve miktarı hakkında bir açıklama,
- Hem liyofilize edilmiş hem de yeniden yapılandırılmış aşının ışıktan korunması gerektiğini bildiren aşının ışığa duyarlılığına ilişkin bir açıklama,
- Aşı ve dezenfektanlar arasında temasın önlenmesi gerektiği,
- Aşıyı yeniden yapılandırmak için eklenecek seyreltici hacmini ve niteliğini gösteren ve seyrelticinin üretici tarafından tedarik edilmesi gerektiğini belirten bir ifade,
- Aşının yeniden yapılandırdıktan sonra derhal kullanılması veya sekiz saati geçmeyen bir süre boyunca karanlıkta 0 - 8 °C arasında saklanması gerektiği ifadesi.

• *Stabilite, depolama ve son kullanma tarihi için;* Stabilite değerlendirmesi, kalite değerlendirmesinin önemli bir parçasıdır. Stabilite çalışmalarının amacı, aşının raf ömrü, depolama süresi veya kullanım süresi sonunda hala kalite, güvenlilik ve etkililiği destekleyen

gerekli özelliklere sahip olmasını sağlamaktır. Lisanslama amacıyla bir aşının stabilitesini destekleyen çalışmalar gerçek zamanlı gerçek durum çalışmaları olarak yapılmalıdır. Stabilite gösteren parametreler dikkatle seçilmelidir. Bunlar, depolama için önerilen koşullar altında gerçek zamanlı çalışmaların bir parçası olarak potens testini her zaman içermeli, ancak bunlarla sınırlı olmamalıdır. Depolama sırasında uygun zaman aralıklarında potens kaybını belirlemek için testler yapılmalıdır. Farklı bulklardan elde edilen en az üç grup aşıdan elde edilen son kaplar, depolama sırasında stabiliteyi göstermek için uzun vadeli stabilite çalışmalarına dayanmalı ve onay için ulusal düzenleyici otoritelere sunulmalıdır. Lisanslamanın bir parçası olarak onaylanan raf ömrünün değiştirilmesi, önerilen değişikliği desteklemek için ek stabilite verileri gerektirir ve ilgili ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanmalıdır. Lisanslama sonrasında, önerilen raf ömrü boyunca stabilite izlenmelidir. Stabilite testi, üretimin farklı aşamalarında, yani tek hasatlarda, final bulk ve final seride yapılmalıdır. Stabilite gösteren parametreler üretim aşamasına göre seçilmelidir. Aşı üretimi sırasında tüm maddelere, özellikle tek hasat, saflaştırılmış bulk ve final bulk gibi ara ürünlere raf ömrü verilmesi önerilir. Geliştirilmekte olan aşılar için, klinik araştırma onayı amacıyla stabilite verileri beklenmektedir. Ancak, daha sınırlı bir süre için oluşturulan stabilite verileri bu aşamada kabul edilebilir. Bir aşının stabilite profilini desteklemek için uygun belgeler, yukarıda belirtilen tüm aşamalarda yetkili ulusal düzenleyici otoriteye sunulmalıdır. Önerilen depolama koşulları ve tanımlanan en yüksek depolama süresi, yukarıda açıklandığı gibi stabilite çalışmalarına dayanmalı ve ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanmalıdır. Dondurularak kurutulmuş kızamık aşıları için 2-8 °C'lik bir sıcaklık tatmin edici bulunmuştur. Bu, aşının saklandığı koşullar etikette belirtilenlere uygunsa, kap veya ambalajın etiketinde belirtilen en düşük potensin serbest bırakıldıktan raf ömrünün sonuna kadar muhafaza edilmesini sağlamalıdır. Son kullanma tarihi, yukarıda açıklandığı gibi stabilite çalışmaları tarafından desteklenen raf ömrü temelinde tanımlanmalıdır ve ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanmalıdır [7-8,10-11].

Kızamık Aşısı Kalite Kontrol Gereklilikleri

Kızamık aşısı geliştirme aşamasında klinik dışı/preklinik ve klinik çalışma gereklilikleri ilgili DSÖ ve Avrupa İlaç Ajansı tarafından belirlenmiş olup aşağıda belirtilen rehberler doğrultusunda raporlandırılması istenmektedir [13,14].

- *Klinik dışı çalışma raporları için;* tek doz ve tekrarlayan doz toksisitesi kemirgen ve kemirgen olmayan (insan dışı primat) hayvan gruplarında, İyi Laboratuvar Uygulamaları-İLU (Good Laboratory Practice-GLP) kalite sistemine uygun test laboratuvarlarında, Aşıların Klinik Olmayan Değerlendirmesine İlişkin Rehbere [13] uygun olarak ürünün immünojenisite (bağışıklık oluşturma derecesi) ve toksikolojik değerlendirmesi (çalışma sonuçları ve raporları) klinik çalışmalara başlayabilmek açısından gereklidir [14].

- *Klinik çalışma raporları için;* klinik çalışmalar, İyi Klinik Uygulamaları-İKU (Good Clinical Practice-GCP) kalite sistemine uygun olarak onaylamış merkezlerde ve Aşıların Klinik Değerlendirmesine İlişkin Rehbere uygun olarak yapılmalı ve raporlandırılmalıdır [14].

Kızamık Aşısı Bitmiş Ürün Kalite Kontrol Yöntemleri

Kızamık aşısı bitmiş ürün kalite kontrol testleri ürünün etkililik ve güvenliliğinin kontrolü için son basamak işlemler olup, ürünün raf ömrü boyunca sağlaması gereken, kalitesinin göstergesi olan kritik kontrol parametreleridir [16]. Kızamık aşısı bitmiş ürün kalite kontrol testleri, Avrupa Farmakopesi ve adaptasyonunu içeren Türk Farmakopesi`nde yer alan aşağıda Tablo 1`de belirtilen yöntemlerden oluşur [8,10,11].

Tablo 1. Kızamık aşısı bitmiş ürün kalite kontrol testleri [8,10,11].

Kızamık Aşıları Kalite Kontrol Testleri		
Test	**Yöntem**	**Referans**
Fiziksel muayene	Görünür partikül yöntemi	EP-01/2020:20920 / TFA-01/2017:20241
pH tayini	Potansiyometrik yöntem	EP-07/2016:20203 / TFA-01/2017:20009
Zararsızlık testi*	Akut toksisite yöntemi	EP-01/2008:20609 / TFA-01/2017:20147
Sterilite testi	Membran filtrasyon yöntemi	EP-04/2011:20601 / TFA-01/2017:20143
Kızamık aşısı tanıma testi	Nötralizasyon ($CCID_{50}$/Cell Culture Infectious Dose 50%) yöntemi	EP-01/2019:0213 / TFA-01/2019:80074
Bakteriyel endotoksin testi (Limulus Amoebocyte Lysate/LAL test)	Türbidimetrik kinetik yöntem	EP-01/2018:20614 / TFA-01/2019:20152
Hacim miktar tayini	Volümetrik yöntem	EP-04/2010:20917 / TFA-01/2017:20238
Artık BSA/FBSA (Sığır Serum Albümini:Bovine Serum Albumin/ Fetal Sığır Serum Albümini:Fetal Bovine Serum Albumin) miktar tayini	Enzim bağlı immünosorbent deneyi (Enzyme-linked immunosorbent assay –ELISA test)	EP-01/2008:20701 / TFA-01/2017:20169
Artık nem miktar tayini	Karl Fischer yöntemi	EP-04/2018:20512 / TFA-01/2018:20114
Kızamık aşısı potens testi	$CCID_{50}$ yöntemi	EP-01/2019:0213 / TFA-01/2019:80074
Kızamık aşısı termal stabilite tayini	$CCID_{50}$ yöntemi	EP-01/2019:0213 / TFA-01/2019:80074

* Avrupa Farmakopesi Avrupa menşeili aşılarda Zararsızlık testini kaldırmıştır ancak DSÖ tarafından bu test önerilmektedir.

SONUÇ

Önlenebilir ve tedavi edilebilir bir hastalık olmasına rağmen, dünyada her yıl milyonlarca kişiyi etkileyen kızamık, DSÖ`nün Genişletilmiş Bağışıklama Programında yer alan ülkelerde uygulanmakta ve günümüzde üretiminin güncel DSÖ kılavuzlarına uygun olarak yapılması noktasında; hammaddelerin kontrolü ve izlenmesi, üretim süreçlerinin yeterliliği, kalite kontrol yöntemleri ve spesifikasyonlarının uygunluğu, bitmiş ürünlerin kontrolüne bağlı olan kalite güvence önlemlerinin gerekliliği vurgulanmaktadır. Kalite kontrol testleri ile aşıların güvenliliği, etkililiği, tekrarlanabilirliği ve tutarlı şekilde yeniden üretilebilirliği sağlanmaktadır. Bu nedenle aşı üretiminde güncel kılavuzların ve kalite kontrol yöntemlerinin uygulanması aşının etkililik ve güvenliliği açısından önem arz etmektedir.

KAYNAKÇA

[1] World Health Organization, Weekly Epidemiological Record (WER). Measles vaccines: WHO position paper 84th year No. 35, 2009;84:349–360. 20 Ekim 2020 tarihinde http://www.who.int/wer/en adresinden erişildi.

[2] Özkan S, Aycan S. Dünyada ve Türkiye'de kızamık hastalığına karşı aşılama programları. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, 1999; 56(1):43-49.

[3] Kızamık eliminasyon programı kızamık saha rehberi. TC Sağlık Bakanlığı, Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Bulaşıcı ve Salgın Hastalıklar Kontrolü Daire Başkanlığı, Ankara, 2004.

[4] World Health Organization, Immunization, Vaccines and Biologicals- Measles (2020, Ocak). 20 Ekim 2020 tarihinde https://www.who.int/immunization/ diseases/measles/en/ adresinden erişildi.

[5] World Health Organization, Immunization, Vaccines and Biologicals. 20 Ekim 2020 tarihinde https://www.who.int/teams/immunization-vaccines-and-biologicals adresinden erişildi.

[6] World Health Organization, Regulation and quality control of vaccines (2017), 25 Eylül 2020 tarihinde https://www.who.int/biologicals/vaccines/regulation_and_ quality_control_vaccines/en/ adresinden erişildi.

[7] World Health Organization, Good manufacturing practices for biological products (WHO Technical Report Series, No. 822 Annex I, 2009).

[8] World Health Organization, Requirements for measles, mumps and rubella vaccines and combined vaccine (live) (WHO Technical Report Series, No. 840, Annex III, 1994)

[9] World Health Organization, Recommendations for the evaluation of animal cell culturesas substrates for the manufacture of biological medicinal products and for the characterization of cell banks, Replacement of Annex 1 (WHO Technical Report Series, No. 878 Annex 3, 2010).

[10] Avrupa Farmakopesi 10.2, Avrupa İlaç Kalite ve Sağlık Bakım Direktörlüğü (EDQM), Strazburg, 2020. Kızamık aşısı (canlı), 01/2019:0213.

[11] Türk Farmakopesi 2017-7.2, TC Sağlık Bakanlığı, Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, Ankara, 2019.

[12] World Health Organization, Guidelines on transmissible spongiform encephalopathies in relation to biological and pharmaceutical products. Geneva, 2003 (WHO/BCT/QSD/03.01).

[13] World Health Organization, WHO guidelines on nonclinical evaluation of vaccines (WHO Technical Report Series, No. 927, 2005).

[14] European Medicines Agency, Guideline on clinical evaluation of vaccines (EMEA/CHMP/VWP/164653/05 Rev. 1 / 26 April 2018).

[15] The National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC). 01 Ekim 2020 tarihinde https://www.nibsc.org/ adresinden erişildi.

[16] Özdemirhan ME, Büzkaya H, Bozyiğit İ, Yurdasiper A, Tuna Yıldırım S, Alğın Yapar E. Biyofarmasötik ürünlerin etkililik ve güvenlilik kontrolünde kullanılan *in vivo* testler. Türk Farmakope Dergisi 2020; 5(3): 68-79.

T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE İLAÇ VE TIBBİ CİHAZ KURUMU

DERLEME MAKALESİ

Türk Farmakope Dergisi 2020, 5(4): 58-71

© Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu 2020

KIZAMIKÇIK AŞISININ GÜNCEL KALİTE KONTROL GEREKLİLİKLERİ

İlhan BOZYİĞİT, Safiye KARAGÖZLÜ, Mehmet Emre ÖZDEMİRHAN, Evren ALĞIN YAPAR*

T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, Analiz ve Kontrol Laboratuvarları Dairesi Başkanlığı, 06430, Sıhhiye-Ankara.

elmek*: evren.yapar@yahoo.com

Geliş tarihi: 23.10.2020 / Kabul tarihi: 24.11.2020

ÖZET

Kızamıkçık, *rubella* virüs kaynaklı sıklıkla çocuk ve genç yetişkinlerde görülen solunum yolu ile bulaşan bir viral enfeksiyondur. Dünya genelinde her yıl milyonlarca vaka ve ölümlerin görüldüğü bu enfeksiyonun önlenmesinde kızamıkçık aşısı son derece etkilidir. Kızamıkçık aşısının üretimi ve kontrolü için uluslararası gereklilikler Dünya Sağlık Örgütü dokümanları ve farmakopelerde yer almakta olup aşı üretimi, başlangıç materyallerinin kabulünden bitmiş ürün sevkiyatına kadar, pilot üretimi de kapsayacak şekilde kalite yönetim sistemi gözetim ve denetiminde, İyi İmalat Uygulamalarına göre gerçekleştirilmeli ve kalite gereklilikleri test edilmelidir. Bu makalede, kızamıkçık aşısı üretimi ve kalite kontrolü için temel gerekliliklere güncel bir bakış sunulmaktadır.

Anahtar kelimeler: Kızamıkçık, Kızamıkçık aşısı, Kalite kontrol testleri, Farmakope, DSÖ.

CURRENT QUALITY CONTROL REQUIREMENTS OF RUBELLA VACCINE

ABSTRACT

Rubella is a respiratory viral infection caused by the *rubella* virus, which is commonly seen in children and young adults. Rubella vaccine is extremely effective in preventing this infection, which causes millions of cases and deaths worldwide every year. International requirements for the production and control of rubella vaccine are contained in the documents and pharmacopoeias of the World Health Organization, and the production of vaccines should be carried out in accordance with Good Manufacturing Practices and quality requirements should be tested under the supervision and inspection of the quality management system, including pilot production, from the acceptance

of starting materials to the shipment of finished products. This article provides an up-to-date overview of the basic requirements for rubella vaccine manufacture and quality control.

Keywords: *Rubella*, Rubella vaccine, Quality control tests, Pharmacopoeia, WHO.

GİRİŞ

Kızamıkçık, *rubella* virüs kaynaklı sıklıkla çocuk ve genç yetişkinlerde görülen solunum yolu ile bulaşan bir viral enfeksiyondur. *Rubella* virüs togavirüs ailesinin Rubivirus cinsinin tek üyesi olup RNA virüsüdür. Kızamıkçık, aşı ile önlenebilir bir akut, bulaşıcı bir viral enfeksiyondur. Kızamıkçık virüsü enfeksiyonu genellikle çocuklarda ve yetişkinlerde hafif ateş ve kızarıklığa neden olurken, hamilelik sırasında, özellikle ilk üç aylık dönemde enfeksiyon, düşük yapma, fetal ölüm, ölü doğum veya konjenital kızamıkçık sendromu (KKS) olarak bilinen konjenital malformasyonlu bebeklerle sonuçlanabilmektedir. Kızamıkçık virüsü, enfekte kişiler hapşırdığında veya öksürdüğünde havadaki damlacıklar yoluyla bulaşır. İnsanlar bilinen tek konaktır. Kulak arkasındaki ve boyundaki şişmiş lenf bezleri en karakteristik klinik özelliktir. Bir kişi enfekte olduğunda, virüs vücuda yaklaşık 5-7 gün içinde yayılır. Belirtiler genellikle maruziyetten 2 ila 3 hafta sonra ortaya çıkar. En bulaşıcı dönem genellikle kızarıklığın ortaya çıkmasından 1-5 gün sonradır. Hamileliğin erken döneminde kızamıkçık virüsü bulaşması durumunda virüsün fetüse geçme ihtimali %90 olarak belirtilmektedir. KKS, çocuklarda işitme bozuklukları, göz ve kalp kusurları ve otizm, şeker hastalığı ve tiroit disfonksiyonu da dahil olmak üzere yaşam boyu süren diğer engellere neden olabilmektedir. KKS doğurganlık çağındaki kadınların hastalığa karşı bağışıklığının olmadığı ülkelerde yüksek risk faktörüdür. Kızamıkçık aşısı, canlı, zayıflatılmış bir aşıdır ve tek bir doz, %95'ten fazla uzun süreli bağışıklık sağlar. Kızamıkçık aşıları ya monovalent formülasyonda (sadece bir patojene yönelik bir aşı) ya da daha yaygın olarak kızamık-kızamıkçık (Measles-Rubella/MR), kızamık-kabakulak-kızamıkçık (Measles-Mumps-Rubella/MMR) veya kızamık-kabakulak-kızamıkçık-su çiçeği (Measles-Mumps-Rubella-Varicella/MMRV) aşıları gibi kombine halde üretilirler. Aşılamayı takiben görülen advers reaksiyonlar/aksi tesirler genellikle hafif olup enjeksiyon bölgesinde ağrı ve kızarıklık, düşük dereceli ateş, kızarıklık ve kas ağrılarını içerebilmektedir [1-2]. Bağışıklama programlarında yer alan kızamıkçık aşısının üretimi ve kalite kontrolü önem arz etmekte olup bu makalede kızamıkçık aşısı ve güncel kalite kontrol yöntemleri hakkında bilgiler yer almaktadır.

Kızamıkçık Aşısı

Kızamıkçık aşısı üretiminin kalite yönetim sistemi gözetim ve denetiminde İyi İmalat Uygulamaları-İİU (Good Manufacturig Practices-GMP) sertifikalı tesislerde yapılması esas olup [3-4] hücre kültüründe tekrarlanan geçişle zayıflatılan üç virüs suşu, kızamıkçık aşısı üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır. Kızamıkçık aşısının özellik ve uygulamalarına dair referans kaynaklarda yer alan bilgilere aşağıda değinilmiştir [3-8]:

- Bu suşlar; HPV-77 suşu (başlangıçta tipik kızamıkçıklı genç bir yetişkinden elde edilmiştir), Cendehill suşu (kızamıkçıklı bir çocuğun idrarından izole edilmiştir) ve RA-27/3 suşudur (maternal *rubella* virüsü enfeksiyonu nedeniyle terapötik düşükte elde edilen bir fetüsün eksplante edilmiş dokularından geri kazanım ile izole edilmiştir). Ek olarak, tavşan böbreği epitel hücrelerinin veya Japon bıldırcın embriyo fibroblastının birincil kültürlerinde yetiştirilen Takahashi, Matsuura ve TO-336 zayıflatılmış suşları Japonya'da büyük ölçekte kullanılmıştır. Lisanslı kızamıkçık aşılarının çoğu, insan diploit hücrelerinde çoğaltılan canlı zayıflatılmış RA 27/3 suşuna dayanmaktadır. Diğer zayıflatılmış kızamıkçık aşısı suşları arasında, esas olarak Japonya'da kullanılan Takahashi, Matsuura ve TO-336 suşları ve Çin'de kullanılan BRD-2 suşu yer alır.
- Tüm aşılar deri altı yolla uygulanmaktadır. Aşı virüsleri, uygulandığı kişilerin yaklaşık %95'inde enfeksiyon ve bağışıklık tepkisine neden olur. Bu enfeksiyonlar, sınırlı sürede ve virüs atılımının yeterliliğinde vahşi tip virüsün farenks tarafından üretilenlerinden farklıdır, düşük insidans viremi ve diğer zayıflatılmış aşılarda olduğu gibi, daha düşük antikor yanıtı tespit edilebilir. Bununla birlikte, aşı uygulanan bireylerde klinik olarak artralji veya artrit şeklinde ortaya çıkan geçici eklem ve periferik sinir sistemi tutulumu ve genellikle doğal hastalıkta ortaya çıkan ekstremitelerde parestezi görülebilir. Bu belirtiler yaş ve cinsiyetle ilişkilidir ve en çok kadınlarda bildirilmiştir. Gözlenen oranlar, gözlem ve takip için kullanılan yönteme bağlı olarak büyük ölçüde değişir, ancak genellikle çocuklarda %1'den az ve yetişkinlerde %10'dan azdır.
- Aşının ürettiği bağışıklığın uzun sürdüğü ve koruyucu antikorların varlığının en az yedi yıl devam ettiği gösterilmiştir, ancak koruyucu etkinin tam süresini belirlemek için aşılanmış bireylerin sürekli gözlemlenmesi gerekmektedir. Hamilelerin kızamıkçık aşısı ile aşılanması önerilmemekte ayrıca, gebe kalmadan önceki iki aylık dönemde de aşılanma önerilmemektedir. Bugüne kadar aşı virüslerine herhangi bir konjenital kusur atfedilmemesine rağmen, zayıflatılmış virüslerin plasentayı geçebileceği ve fetüse zarar verebileceği dikkate alınmalıdır. Kızamıkçık aşısının yaygın kullanımı, bildirilen hem kızamıkçık hem de KKS vakalarının sayısında önemli bir düşüş sağlamıştır. Bu etkililik kanıtıyla, zayıflatılmış aşıların kullanımı dünya genelinde giderek yaygınlaşmaktadır.
- Canlı kızamıkçık aşısının üretimi ve testi için gereklilikleri 1977'de Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından yayınlanmıştır. Ancak daha sonra yapılan çalışmalarda bir doz RA27/3 suşu içeren canlı zayıflatılmış/atenüe kızamıkçık aşısı bağışıklamasını takiben 10–21 yıl boyunca koruma süresinin araştırıldığı çalışmalarda, kalıcı seropozitifliğin ≥%95 olduğu, yeniden enfeksiyonun, önceden mevcut antikorları olan bir kişide antikor derişiminde önemli bir artış olarak tanımlandığı ve daha önce aşılanmış bir kadında gebeliğin ilk 12 haftasında meydana gelen kızamıkçığın yeniden enfeksiyonu durumunda, konjenital enfeksiyon riskinin muhtemelen düşük olacağı belirtilmektedir.

- Aşı kaynaklı bağışıklığın genellikle ömür boyu olduğu varsayılmakta ancak kızamıkçık antikorları saptanabilir düzeylerin altına düşebilmektedir. Kızamıkçık aşısı için gerekli etkililik ve stabilite DSÖ tarafından belirlenmiştir. Her bir doz aşı en az 1000 $TCID_{50}$ (Median Tissue Culture Infectious Dose: Doku Kültürü İçin Enfektif Dozun %50'sini) içermelidir.

Kızamıkçık Aşısı Üretiminde Virüs Suşunun Belgelendirilmesi

Kızamıkçık aşısı üretiminin, başlangıç materyallerinin kabulünden bitmiş ürün sevkiyatına kadar pilot üretimi de kapsayacak şekilde kalite yönetim sistemi gözetim ve denetiminde İyi İmalat Uygulamaları-İİU (Good Manufacturig Practices-GMP) sertifikalı tesislerde yapılması ve üretimde aşağıdaki hususlara dikkat edilmesi gerektiği belirtilmektedir [4-6,8-9].

- Kızamıkçık aşı üretimi tohum seri sistemine dayalı olmalıdır. Ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanan bir suştan hazırlanan tohum serisinden hazırlanmalıdır. Ana tohum Serisi ve Çalışma Tohum Serisini içeren Hücre Bankası oluşturulmalıdır.
- Her ana tohum veya çalışma tohum serisinin, ulusal kontrol otoritesi tarafından onaylanan bir türünün kızamıkçığa duyarlı maymunlardaki testlerle nöropatojenik (nörovirülans) olmadığı gösterilmelidir. Ulusal düzenleyici otoritenin görüşleri doğrultusunda bu test, tohum serisinden türetilen beş tutarlı seri aşıda da yapılabilir. Maymunların gereksiz kullanımını önlemek için, virüs tohumu serileri büyük miktarlarda hazırlanmalıdır.
- Virüs tohumu serisi ya dondurularak kurutulmuş ya da dondurulmuş halde muhafaza edilmeli ve her seri ayrı ayrı saklanmalıdır. Dondurularak kurutulmuş ise -20°C'nin altındaki bir sıcaklıkta, dondurulmuş ise -60°C'nin altındaki bir sıcaklıkta sürekli tutulmalıdır.
- Aşı suşları, kızamıkçık virüsünün karakterizasyonu için antikorların kullanımı da dahil olmak üzere moleküler ve serolojik yöntemlerle karakterize edilmelidir. Bu aynı zamanda hayvana aşılamayı (inokülasyon) da içermelidir. Ek olarak, en azından ana veya çalışma tohum serisinin glikoprotein ve nükleoprotein genlerinin sıralanması düşünülmelidir.
- Kızamıkçık aşısı üretiminde kullanılan kızamıkçık virüsü suşu; suşun kökeni, zayıflatma/atenüasyon yöntemi ve zayıflatılmanın/atenüasyonun klinik değerlendirme ile gösterildiği geçiş seviyesi hakkında bilgi içeren tarihsel kayıtlarla belirlenmelidir.
- Aşı üretiminde kullanılan kızamıkçık virüsü suşunun, zayıflatılmış kızamıkçık virüsü dışında herhangi bir mikroorganizma ile kontamine olmadığı, uygun laboratuvar testleriyle güvenli olduğu ve duyarlı insanlarda yapılan testlerle güvenli olduğu ve bağışıklık oluşturduğu/immünojenik olduğu gösterilmelidir. Sadece ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanmış suşlar kullanılmalıdır.

- Duyarlı bireylerde serokonversiyona/kanda özgül antikorların görülmesine neden olan aşıdaki en düşük aşılama dozajı doz-cevap çalışmasında belirlenecektir. Bu doz, aşının stabilitesi ve raf ömrünün sona ermesi parametrelerinin oluşturulması için temel oluşturacaktır.

Kızamıkçık Aşısı Üretimi İçin Temel Gereklilikler

Kızamıkçık aşısı üretiminde referans kılavuz ve kaynaklar itibariyle aşağıda belirtilen hususlara dikkat edilmesi gerektiği belirtilmektedir [4-6,8-10].

- Kızamıkçık aşısı üretimi Biyolojik Ürünler İçin İyi İmalat Uygulamalarına göre yapılmalı, bu doğrultuda aynı iş günü içinde diğer bulaşıcı mikroorganizmaları, hayvanları veya doku kültürlerini işlemeyen ayrı bir personel tarafından yapılmalıdır.
- Personel, tıbbi olarak muayene edilen ve sağlıklı olduğu tespit edilen kişilerden oluşmalıdır.
- Üretim alanlarında yer alan tüm personelin kızakmıkçığa karşı bağışıklık kazanmasını sağlamak için gerekli işlemler yapılmalıdır.
- Kızamıkçık aşısı üretimi için sadece ulusal kontrol otoritesi tarafından onaylanan virüs tohum serisi ve hücre kültürleri üretim alanında tanıtılmalı veya işlenmelidir.
- Denetçiler dışında üretim süreçleriyle doğrudan ilgili olmayan kişilerin, geçerli bir sebep ve özel izin olmadan üretim alanına girmesine izin verilmemelidir.
- Üretim ve testten sorumlu kişilerin ve üretim tesisinde çeşitli sorumluluk alanlarına atananların eğitim ve deneyimlerine ilişkin Biyolojik Ürünler İçin İyi İmalat Uygulamalarındaki tavsiyelere uyması ve bu personelin ulusal kontrol otoritesine bildirilmesine özellikle dikkat edilmelidir.

Üretimin kontrolü için aşağıda belirtilen aşamalarda kritik kontroller yapılmalıdır [4-6,8-10].

Kızamıkçık virüs suşu kontrolü; canlı kızamıkçık aşısı üretiminde kullanılan kızamıkçık virüsü suşu, aşı üretiminde kullanılmak üzere virüs suşunun belgelendirilmesi başlığında verilen gereklilikleri karşılamalıdır. Virüs ana ve çalışma tohum serisini de kapsayacak şekilde, her bir virüs tohumu serisi, bakteri, mantar ve mikoplazma kontaminasyonu (bulaşma) için test edilmelidir. İstenmeden ortaya çıkan ajanlar için hücre kültüründe tanı ve doğrulama için polimeraz zincir reaksiyonu testi (Polymerase Chain Reaction-PCR) veya nükleik asit testi (Nucleic Acid Test-NAT) yapılmalıdır.

Virüs çoğaltılması için kullanılan substratlarda yapılan kontroller; kızamıkçık aşıları insan diploit hücreleri ve primer civciv embriyo hücreleri gibi substratlarda üretilebilir. Her bir substratın kullanılabilmesi için ilgili standart doküman ve kılavuzlarda (Türk Farmakopesi, Avrupa Farmakopesi, DSÖ Teknik Rapor Serileri) belirtilen asgari gerekliliklerle uyumlu olmalıdır.

- *Kızamıkçık aşısı virüs çoğaltılmasında İnsan Diploit Hücre Hatları* kullanılacaksa (MRC-5,WI-38,FRhL); Ana Tohum Serisi ve Çalışma Tohum Serisini kapsayacak Hücre Banka Sistemi oluşturulmalıdır. Ana Tohum Serisi ve Çalışma Tohum Serisi 01/2018;50203, TFA-01/2018:50014 monograf gerekliliklerini karşılanmalıdır. Her bir hücre tohum serisi, bakteriyel, fungal ve mikoplazmal kontaminasyon (bulaşma) ve istenmeden ortaya çıkan ajanlar için test edilmelidir.
- Kızamıkçık virüsünün çoğaltılmasında tavşan böbrek hücre kültürleri kullanılacaksa, böbreklerin alındığı tavşan (*Oryctolagus cuniculis*); *Coccidiosis, Myxomatosis, Rabbitpox virus, Fibromatosis, Herpesvirus cuniculi, Mycobacterium tuberculosis, Nosema cuniculi, Toxoplasma gondii*, Rabbit kidney vacuolating virus, Syncytium virus of rabbit, ve tavşanlarda doğal olarak oluşan diğer patojenik mikroorganizmalar ve viral ajanlar açısından sürekli izlenen kapalı koloniden olacaktır. EP-01/2018;50203, TFA-01/2018:50014 monograf gerekliliklerini karşılamalıdır. Her bir hücre tohumu serisi, bakteri, mantar ve mikoplazma bulaşması ve istenmeden ortaya çıkan ajanlar için test edilmelidir.

Her iki substrat için;

- Aşı üretiminde kullanılacak hücre kültür ortamında kullanılan sığır kökenli herhangi bir bileşenin kaynağının kabul edilebilirliği ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanmalıdır. Bu bileşenler, sığır bulaşıcı süngerimsi ensefalopatileri (Bovine spongiform encephalopathy/ BSE) ile ilgili olarak güncel DSÖ kılavuzlarına uygun olmalıdır. BSE, *Bovine leukosis*, bakteri, mantar ve mikoplazma yönüyle test edilmelidir. Kızamıkçık virüs inhibitörü içermemelidir.
- İnsan serumu kullanılmamalıdır. İnsan albümini kullanılıyorsa, "Kan, Kan Bileşenleri ve Plazma Türevlerinin Toplanması, İşlenmesi ve Kalite Kontrolü için Gözden Geçirilmiş Gereklilikleri (Biyolojik Madde Gereklilikleri No. 27)" ve ayrıca insan bulaşıcı ensefalopatileri ile ilgili güncel DSÖ kılavuzlarını karşılamalıdır.
- Penisilin ve diğer beta-laktam grubu antibiyotikler, üretimin herhangi bir aşamasında kullanılmamalıdır. Neomisin gibi uygun antibiyotiklerin ise minimal derişimleri, ulusal düzenleyici otoritenin değerlendirme ve onayı ile kullanıma alınmalıdır.
- Sığır kökenli tripsin kaynağı/kaynakları kullanılırsa, ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanmış olmalıdır. Sığır tripsini kullanılacaksa, hayvan bulaşıcı süngerimsi ensefalopatileri ile ilgili olarak geçerli DSÖ kılavuzlarında belirtilen gerekliliklere uygun olmalıdır.

Kızamıkçık Aşısı Üretiminde Kritik Aşamalar

DSÖ'nün hücre substratlarında üretilen kızamıkçık aşısı için öneriler teknik raporuna göre, hücre kültürleri, tek virüs hasatlarının ve saflaştırılmış bulk (yığın) maddenin kontrolü için aşağıda belirtilen hususların dikkate alınması önerilmektedir [5-9]:

- *Kontrol hücresi kültürler için*;
  - Kontrol hücresi kültürleri, üretim hücresi kültürlerine benzer şekilde ele alınmalı, ancak yabancı virüslerin tespiti için kullanılabilmeleri için kızamıkçık virüsü inoküle edilmemiş şekilde kalmalıdır.
  - Hemadsorbe edici virüsler için testler, kontrol hücresi sıvılarında diğer istenmeden ortaya çıkan ajanlar için testler, tanıma testi yapılmalıdır.
- *Tek virüs hasatlarının kontrolü için;* virüs sıvıları ulusal kontrol otoritesi tarafından onaylanan bir yöntemle hasat edilmelidir. Tek bir hasat, bir üretim hücre kültüründen birkaç ardışık hasadın bir kombinasyonu olabilir. Tek hasatlar genellikle kısmen veya tamamen stabilize edilir ve havuzlanana kadar -60°C'de veya altında saklanır. Hasat sırasında veya üretimin herhangi bir sonraki aşamasında antibiyotik eklenmemelidir. Sterilite ve virüs içeriği için testlerde tek hasat örnekleri alınmalı; hemen test edilmeyecek ise test yapılana kadar -60°C'de veya altında tutulmalıdır. Sterilite ve virüs içeriği yönüyle uygun ise bir sonraki basamakta kullanılabilecektir.
- *Virüs havuzunun kontrolü için;*
  - Virüs havuzu, bir veya birkaç tekli hasattan hazırlanmalı ve bu testler her bir hasatta önceden yapılmadığı sürece aşağıdaki testlere tabi tutulmalıdır; bu durumda bile virüs havuzu sterilite açısından test edilmelidir. Hemen test edilmeyen numuneler -60°C'de veya altında saklanmalıdır.
  - *Sterilite testleri:* Ulusal kontrol otoritesi tarafından onaylanmış bir yöntemle bakteriler, mantarlar ve mikoplazmalar yönüyle test edilmelidir.
  - *Virüs titrasyonu:* Her bir virüs havuzunun canlı virüs içeriği, hücre kültüründeki titrasyon ile belirlenmelidir.
  - *Hücre kültürlerinde nötralize edilmiş virüs havuzunun testleri:* Her virüs havuzunun en az 500 insan dozu veya 50 mL'ye eşdeğer bir hacmi olmalıdır. Belirlenen hacimden daha yüksek hacim için nötralizasyon sağlayacak spesifik antikor kullanımı ile virüs nötralize edilmeli ve hücre kültürlerine aşılanmasıyla diğer bulaşıcı etkenler için test edilmelidir.
  - Virüs havuzu, üç ila yedi günlük bir gözlem süresinin sonunda, herhangi bir bulaşıcı etkenin varlığına dair bir kanıt yoksa testi geçerli kabul edilir. İnoküle edilmemiş kontrol hücrelerinde bulaşıcı bir etken tespit edilirse test tekrarlanmalıdır.
- *Virüs havuzunun saflaştırılması için;*
  - Virüs havuzu, hücrelerin ve hücre kalıntılarının giderilmesini en üst düzeye çıkaracak bir yöntemle saflaştırılmalıdır.

- Temizlenen bulk/yığın süspansiyon numuneleri, mikroskobik olarak gözlemlenebilir hücrelerin veya hücre parçacıklarının kalmamasını sağlamak için temizlemeden hemen sonra alınmalıdır. Numuneler ayrıca virüs titrasyonu ve sterilite testi için havuzdan alınmalıdır. Hemen test edilmezse, numuneler test yapılıncaya kadar -60°C'de veya altında tutulmalıdır.
- *Sterilite testleri*: Ulusal kontrol otoritesi tarafından onaylanmış bir yöntemle bakteriler, mantarlar ve mikoplazmalar yönüyle test edilmelidir.
- *Virüs titrasyonu*: Her bir virüs havuzunun canlı virüs içeriği, hücre kültüründeki titrasyon ile belirlenmelidir.

• *Final bulk/nihai yığın hazırlanması ve kontrolü için*; DSÖ'nün kızamık, kabakulak ve kızamıkçık aşıları ve kombine aşı (canlı) için gereklilikler teknik raporu WHO TRS 840 Annex III dokümanına göre final bulk hazırlanması ve kontrolü için aşağıda belirtilen hususların dikkate alınması önerilmektedir [4-10]:

- Final bulk, kontrol kültürleri belirtilen testleri geçtiği substratlardan elde edilen iki veya daha fazla saflaştırılmış virüs havuzundan, virüs havuzları ve virüs havuzunun saflaştırılması aşamasında belirtilen testleri geçmesi halinde hazırlanmalıdır.
- *Eklenen maddeler*: Final bulk hazırlanması sırasında ürüne eklenen seyreltici veya stabilizatör gibi herhangi bir kullanılan madde derişiminin ürünün güvenliliğini veya etkililiğini bozmadığı uygun testlerle gösterilmiş olmalıdır.
- Final bulk maddenin hazırlanmasında, sadece ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanan insan albümini ve diğer maddeler eklenmelidir. Bu tür maddelerin, kullanılan derişimde ürünün güvenliliğini veya etkililiğini bozmadığı uygun testlerle gösterilmiş olmalıdır.
- Her final bulk, biyolojik maddelerin sterilitesi için genel gereklilikleri karşılamak zorundadır.
- *Artık hayvan serum proteinleri*: Hücre kültürü sisteminde serum kullanılmışsa, final bulktan bir örnek ile serum albüminin kalıntı miktarının tek bir insan dozu başına 50 ng'den az olduğunu doğrulamak için test edilmelidir.
- *Sterilite testleri*: Ulusal kontrol otoritesi tarafından onaylanmış bir yöntemle bakteriler, mantarlar ve mikoplazmalar yönüyle test edilmelidir.
- *Depolama ve saklama koşulları*: Kaplara dağıtılana ve liyofilize oluncaya kadar, final bulk, aşının aktivitesini korumak için üretici tarafından gösterilen koşullarda saklanmalıdır.

- *Dolum ve kaplar için*; Biyolojik ürünler için İİU kapsamında verilen dolum ve kaplarla ilgili gereklilikler final formda doldurulmuş aşı için geçerli olmalıdır [4-6,8].
- *Final ürün üzerinde kontrol testleri için*; DSÖ'nün kızamık, kabakulak ve kızamıkçık aşıları ve kombine aşı (canlı) için gereklilikler teknik raporu WHO TRS 840 Annex III, Avrupa Farmakopesi 10.2 canlı kızamıkçık aşısı 04/2019:0162 monografı ile Türk Farmakopesi TFA-01/2019:80077 monografına göre, final ürün üzerinde kontrol testleri için aşağıda belirtilen hususların dikkate alınması önerilmektedir [5-6,8].
  - Her dolum serisinden en az bir etiketli kap/primer ambalaj üzerinde uygun bir yöntemle tanıma testi yapılmalıdır.
  - Her dolum serisi, bakteri, mantar ve mikoplazma yönüyle sterilite açısından test edilmelidir. Biyolojik maddelerin sterilitesi için genel gereklilikleri karşılamalıdır.
  - Her son seri, ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanan bir genel güvenlilik testi (innocuity test/zararsızlık testi) kullanılarak beklenmeyen toksisite (The Abnormal Toxicity Test/ATT) açısından test edilmelidir.
  - Her dolum serisi virüs derişimi ve termostabilite yönüyle ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanan sınırlar içinde olmalıdır.
  - Her son seri için, tanıma testi yapılır.
  - Her dondurularak kurutulmuş serinin temsili bir örneğindeki nem kalıntısı, ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanan bir yöntemle belirlenebilir. Nem içeriğinin üst sınırı ulusal düzenleyici otorite tarafından belirtilmelidir. Genel olarak %3'ten az nem seviyeleri tatmin edici olarak kabul edilir.
  - Final sulandırılmış aşıdaki sığır serum albümin seviyesinin insan dozu başına 50 ng'den az olduğunu doğrulamak için final serinin bir örneği test edilmelidir.
- Etiketleme için; biyolojik ürünler için İİU kapsamında verilen öneriler aşağıdakilerin eklenmesiyle geçerli kılınmalıdır. Karton etiketi veya ürün bilgilerinde şunları içermelidir [5-6,8]:
  - Aşının gerekliliklerini karşılama durumuna ait bir açıklama,
  - Aşıda kızamıkçık virüsünün suşunu, insan dozu başına en az enfektif birim sayısını ve aşıyı hazırlamak için kullanılan substratın kökenini belirten preparatın doğası hakkında bir açıklama,
  - Aşıda bulunan herhangi bir antibiyotiğin niteliği ve miktarı hakkında bir açıklama,
  - Hem liyofilize edilmiş hem de yeniden yapılandırılmış aşının ışıktan korunması gerektiğini bildiren aşının ışığa duyarlılığına ilişkin bir açıklama,

- Aşı ve dezenfektanlar arasında temasın önlenmesi gerektiği,
- Aşıyı yeniden yapılandırmak için eklenecek seyreltici hacmini ve niteliğini gösteren ve seyrelticinin üretici tarafından tedarik edilmesi gerektiğini belirten bir ifade,
- Aşının yeniden yapılandırdıktan sonra derhal kullanılması veya sekiz saati geçmeyen bir süre boyunca karanlıkta 0-8 °C arasında saklanması gerektiği ifadesi.

• *Stabilite, depolama ve son kullanma tarihi için*; stabilite değerlendirmesi, kalite değerlendirmesinin önemli bir parçasıdır. Stabilite çalışmalarının amacı, aşının raf ömrü, depolama süresi veya kullanım süresi sonunda hala kalite, güvenlilik ve etkililiği destekleyen gerekli özelliklere sahip olmasını sağlamaktır. Lisanslama amacıyla bir aşının stabilitesini destekleyen çalışmalar gerçek zamanlı gerçek durum çalışmaları olarak yapılmalıdır. Stabilite gösteren parametreler dikkatle seçilmelidir. Bunlar, depolama için önerilen koşullar altında gerçek zamanlı çalışmaların bir parçası olarak potens testini her zaman içermeli, ancak bunlarla sınırlı olmamalıdır. Depolama sırasında uygun zaman aralıklarında potens kaybını belirlemek için testler yapılmalıdır. Farklı bulklardan elde edilen en az üç grup aşıdan elde edilen son kaplar, depolama sırasında stabiliteyi göstermek için son kullanma tarihinde test edilmelidir. Stabiliteyi etkileyebilecek sıcaklıklarda sınırlı süreler boyunca saklanan bir ürün için hızlandırılmış stabilite testinden elde edilen veriler, devam eden gerçek zamanlı stabilite çalışmalarından elde edilen ön verileri destekleyebilir, ancak bunların yerini almamalıdır. Bununla birlikte, ürünün raf ömrünü desteklemek için stabilite ile ilgili daha fazla veri, gerçek koşullar altında uzun vadeli stabilite çalışmalarına dayanmalı ve onay için ulusal düzenleyici otoritelere sunulmalıdır. Lisanslamanın bir parçası olarak onaylanan raf ömrünün değiştirilmesi, önerilen değişikliği desteklemek için ek stabilite verileri gerektirir ve ilgili ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanmalıdır. Lisanslama sonrasında, önerilen raf ömrü boyunca stabilite izlenmelidir. Stabilite testi, üretimin farklı aşamalarında, yani tek hasatlarda, final bulk ve final seride yapılmalıdır. Stabilite gösteren parametreler üretim aşamasına göre seçilmelidir. Aşı üretimi sırasında tüm maddelere, özellikle tek hasat, saflaştırılmış bulk ve final bulk gibi ara ürünlere raf ömrü verilmesi önerilir. Geliştirilmekte olan aşılar için, klinik araştırma onayı amacıyla stabilite verileri beklenmektedir. Ancak, daha sınırlı bir süre için oluşturulan stabilite verileri bu aşamada kabul edilebilir. Bir aşının stabilite profilini desteklemek için uygun belgeler, yukarıda belirtilen tüm aşamalarda yetkili ulusal düzenleyici otoriteye sunulmalıdır. Önerilen depolama koşulları ve tanımlanan en yüksek depolama süresi, yukarıda açıklandığı gibi stabilite çalışmalarına dayanmalı ve ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanmalıdır. Dondurularak kurutulmuş kızamıkçık aşıları için 2-8 °C'lik bir sıcaklık tatmin edici bulunmuştur. Bu, aşının saklandığı koşullar etikette belirtilenlere uygunsa, kap veya ambalajın etiketinde belirtilen en düşük potensin serbest

bırakıldıktan raf ömrünün sonuna kadar muhafaza edilmesini sağlamalıdır. Son kullanma tarihi, yukarıda açıklandığı gibi stabilite çalışmaları tarafından desteklenen raf ömrü temelinde tanımlanmalıdır ve ulusal düzenleyici otorite tarafından onaylanmalıdır [5-6,8].

Kızamıkçık Aşısı Kalite Kontrol Gereklilikleri

Kızamıkçık aşısı geliştirme aşamasında klinik dışı/preklinik ve klinik çalışma gereklilikleri ilgili DSÖ ve Avrupa İlaç Ajansı (European Medicines Agency-EMA) tarafından belirlenmiş olup aşağıda belirtilen rehberler doğrultusunda raporlandırılması istenmektedir [11-12].

- *Klinik dışı çalışma raporları için*; tek doz ve tekrarlayan doz toksisitesi kemirgen ve kemirgen olmayan (insan dışı primat) hayvan gruplarında, İyi Laboratuvar Uygulamaları-İLU (Good Laboratory Practice-GLP) kalite sistemine uygun test laboratuvarlarında, Aşıların Klinik Olmayan Değerlendirmesine İlişkin Rehbere [11] uygun olarak ürünün immünojenisite (bağışıklık oluşturma derecesi) ve toksikolojik değerlendirmesi (çalışma sonuçları ve raporları) klinik çalışmalara başlayabilmek açısından gereklidir [12].
- *Klinik çalışma raporları için*; klinik çalışmalar, İyi Klinik Uygulamaları-İKU (Good Clinical Practice-GCP) kalite sistemine uygun olarak onaylanmış merkezlerde ve Aşıların Klinik Değerlendirmesine İlişkin Rehbere uygun olarak yapılmalı ve raporlandırılmalıdır [12].

Kızamıkçık Aşısı Güncel Kalite Kontrol Gereklilikleri

Kızamıkçık aşısı bitmiş ürün kalite kontrol testleri ürünün etkililik ve güvenliliğinin kontrolü için son basamak işlemler olup, ürünün raf ömrü boyunca sağlaması gereken kalitesinin göstergesi olan kritik kontrol parametreleridir [13]. Kızamıkçık aşısı için bitmiş ürün kalite kontrol testleri, Avrupa Farmakopesi ve adaptasyonunu içeren Türk Farmakopesi`nde yer alan aşağıda Tablo 1`de belirtilen yöntemlerden oluşur [5-6,8].

Tablo 1. Kızamıkçık aşısı bitmiş ürün kalite kontrol testleri [5-6,8].

Kızamıkçık Aşıları Kalite Kontrol Testleri		
Test	**Yöntem**	**Referans**
Fiziksel muayene	Görünür partikül yöntemi	EP-01/2020:20920 / TFA-01/2017:20241
pH tayini	Potansiyometrik yöntem	EP-07/2016:20203 / TFA-01/2017:20009
Zararsızlık testi*	Akut toksisite yöntemi	EP-01/2008:20609 / TFA-01/2017:20147
Sterilite testi	Membran filtrasyon yöntemi	EP-04/2011:20601 / TFA-01/2017:20143
Kızamıkçık aşısı identite tayini	Nötralizasyon ($CCID_{50}$/Cell Culture Infectious Dose 50%) yöntemi	EP-01/2019:0162 / TFA-01/2019:80077
Bakteriyel endotoksin testi (Limulus Amoebocyte Lysate/LAL test)	Türbidimetrik kinetik yöntem	EP-01/2018:20614 / TFA-01/2019:20152
Hacim miktar tayini	Volümetrik yöntem	EP-04/2010:20917 / TFA-01/2017:20238
Artık BSA/FBSA (Sığır Serum Albümini:Bovine Serum Albumin/ Fetal Sığır Serum Albümini:Fetal Bovine Serum Albumin) miktar tayini	Enzim bağlı immünosorbent deneyi (Enzyme-linked immunosorbent assay –ELISA test)	EP-01/2008:20701 / TFA-01/2017:20169
Artık nem miktar tayini	Karl Fischer yöntemi	EP-04/2018:20512 / TFA-01/2018:20114
Kızamıkçık aşısı potens tayini	$CCID_{50}$ yöntemi	EP-01/2019:0162 / TFA-01/2019:80077
Kızamıkçık aşısı termal stabilite tayini	$CCID_{50}$ yöntemi	EP-01/2019:0162 / TFA-01/2019:80077

* Avrupa Farmakopesi Avrupa menşeili aşılarda Zararsızlık testini kaldırmıştır ancak DSÖ bu testi halen önermektedir.

SONUÇ

Kızamıkçık, akut, bulaşıcı bir viral enfeksiyon olarak genellikle çocuklarda ve yetişkinlerde hafif ateş ve kızarıklığa neden olurken, hamilelik sırasında, özellikle ilk üç aylık dönemde enfeksiyon, düşük yapma, fetal ölüm, ölü doğum veya konjenital kızamıkçık sendromu olarak bilinen konjenital malformasyonlu bebeklerin doğumu ile sonuçlanabilmektedir. Önlenebilir ve tedavi edilebilir bir hastalık olmasına rağmen, dünyada her yıl milyonlarca kişiyi etkilemektedir. DSÖ, kızamıkçık aşısının tüm ülkelerde uygulanmasını önlenebilir doğum kusurlarını ortadan kaldırma hedefleri açısından önermekte ve bu doğrultuda ulusal aşılama programlarında kızamıkçık aşısı kullanan ülkelerin sayısı giderek artmaktadır. DSÖ, rutin aşılama programlarını iyileştirmek ve hedefli aşılama kampanyaları düzenlemek üzere ülkelere teknik destek sağlamakta bu doğrultuda DSÖ Küresel Kızamık ve Kızamıkçık Laboratuvar Ağı, kızamıkçık ve KKS vakalarının teşhisini ve kızamıkçık

virüslerinin yayılmasının izlenmesini desteklemektedir. Kızamıkçık aşısının üretiminin güncel DSÖ kılavuzlarına uygun olarak yapılması kapsamında; hammaddelerin kontrolü ve izlenmesi, üretim süreçlerinin yeterliliği, kalite kontrol yöntemleri ve spesifikasyonlarının uygunluğu, bitmiş ürünlerin kontrolüne bağlı olan kalite güvence önlemlerinin gerekliliği vurgulanmaktadır. Kalite kontrol testleri ile aşıların güvenliliği, etkililiği, tekrarlanabilirliği ve tutarlı şekilde yeniden üretilebilirliği sağlanmaktadır. Bu nedenle aşı üretiminde güncel kılavuzların dikkate alınması ve güncel kalite kontrol yöntemlerinin uygulanması aşının etkililik ve güvenliliği açısından önem arz etmektedir.

KAYNAKÇA

[1] World Health Organization, Rubella (04 Ekim 2019). 22 Ekim 2020 tarihinde https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/rubella adresinden erişildi.

[2] World Health Organization, Immunization, vaccines and biologicals, Rubella (03 Kasım 2016). 22 Ekim 2020 tarihinde https://www.who.int/immunization/diseases/rubella/en/ adresinden erişildi.

[3] World Health Organization, Regulation and quality control of vaccines (2017). 22 Ekim 2020 tarihinde https://www.who.int/biologicals/vaccines/regulation_and_quality_control_vaccines/en/ adresinden erişildi.

[4] World Health Organization, Good manufacturing practices for biological products (WHO Technical Report Series, No. 822 Annex I, 2009).

[5] Avrupa Farmakopesi 10.2, Avrupa İlaç Kalite ve Sağlık Bakım Direktörlüğü (EDQM), Strazburg, 2020. Kızamıkçık aşısı (canlı), 01/2019:0162.

[6] Türk Farmakopesi 2017-7.2, TC Sağlık Bakanlığı, Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, Ankara, 2019.

[7] World Health Organization, Rubella vaccines: WHO position paper, Weekly epidemiological record. No. 29, 2011;86,301–316. 22 Ekim 2020 tarihinde http://www.who.int/wer adresinden erişildi.

[8] World Health Organization, Requirements for measles, mumps and rubella vaccines and combined vaccine (live) (WHO Technical Report Series, No. 840, Annex III, 1994).

[9] World Health Organization, Recommendations for the evaluation of animal cell culturesas substrates for the manufacture of biological medicinal products and for the characterization of cell banks, Replacement of Annex 1 (WHO Technical Report Series, No. 878 Annex 3, 2010).

[10] World Health Organization, Guidelines on transmissible spongiform encephalopathies in relation to biological and pharmaceutical products. Geneva, 2003 (WHO/BCT/QSD/03.01).

[11] World Health Organization, WHO guidelines on nonclinical evaluation of vaccines (WHO Technical Report Series, No. 927, 2005).

[12] Guideline on clinical evaluation of vaccines. EMEA/CHMP/VWP/164653/05 Rev. 1 / 26 April 2018.

[13] Özdemirhan ME, Büzkaya H, Bozyiğit İ, Yurdasiper A, Tuna Yıldırım S, Alğın Yapar, E. Biyofarmasötik ürünlerin etkililik ve güvenlilik kontrolünde kullanılan *in vivo* testler. Türk Farmakope Dergisi 2020; 5(3): 68-79.

[14] The National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC). 01 Ekim 2020 tarihinde https://www.nibsc.org/ adresinden erişildi.

T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE İLAÇ VE TIBBİ CİHAZ KURUMU

DERLEME MAKALESİ

Türk Farmakope Dergisi 2020, 5(4): 72-78

© Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu 2020

TIBBİ YÜZ MASKELERİ VE GÜNCEL KALİTE KONTROL GEREKLİLİKLERİ

Gökhan CENGİZ, Ferat ŞAHİN, Evren ALĞIN YAPAR*

T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, Analiz ve Kontrol Laboratuvarları Dairesi Başkanlığı, 06430, Sıhhiye-Ankara.

elmek*: evren.yapar@yahoo.com

Geliş tarihi: 23.10.2020 / Kabul tarihi: 25.11.2020

ÖZET

Tıbbi yüz maskeleri, genel olarak tıbbi işlemler sırasında sağlık çalışanlarının kullandığı maskeler olup aynı zamanda solunum yolu hastalığı olan veya bundan şüphelenilen (grip, tüberküloz, COVID-19 vd.) kişilerin hastalığı başkalarına bulaştırmaması ve salgın dönemlerinde enfeksiyon etmeninin insanlar arasında yayılmasını önlemek amacıyla kullanılmaktadır. Tıbbi yüz maskelerinden beklenen performansın ölçülmesi ve amacına yönelik olarak üretilip üretilmediğini kontrol etmek için maskelerin kalite kontrol analizleri ile uygunluklarının değerlendirilmesi gerekmektedir. Bu kapsamda tıbbi ürünlerde standardizasyon, standartlar ve farmakopeler doğrultusunda kalite kontrol testleri ile sağlanmaktadır. Bu derlemede tıbbi yüz maskeleri ve güncel kalite kontrol gerekliliklerine ilgili mevzuat ve standartlar kapsamında değinilmektedir.

Anahtar kelimeler: Tıbbi yüz maskesi, Kalite kontrol testleri, Bakteri filtrasyon verimliliği, Sıçrama direnci basıncı, Standardizasyon.

MEDICAL FACE MASKS AND CURRENT QUALITY CONTROL REQUIREMENTS

ABSTRACT

Medical face masks are the masks used by healthcare professionals during medical procedures in general. It is also used for people with respiratory tract diseases or suspected of it (influenza, tuberculosis, COVID-19 etc.) to prevent the transmission of these diseases to others and to prevent the spread of the disease among people during epidemics. It is necessary to measure the expected performance of medical face masks and to check their conformity with quality control

analyzes to evaluate whether they are produced for their purpose. In this context, standardization in medical products is provided with quality control tests in line with standards and pharmacopoeias. In this review, medical face masks and current quality control requirements are discussed within the scope of the relevant legislation and standards.

Keywords: Medical face mask, Quality control tests, Bacterial filtration efficiency, Splash resistance pressure, Standardization.

GİRİŞ

Tıbbi yüz maskeleri tıbbi cihaz olarak sınıflandırılmaktadır. 07.06.2011 tarih ve 27957 sayılı Resmi Gazete'de yayımlanan Tıbbi Cihaz Yönetmeliği'nde tıbbi cihaz, *"İnsanda kullanıldıklarında aslî fonksiyonunu farmakolojik, immünolojik veya metabolik etkiler ile sağlamayan fakat fonksiyonunu yerine getirirken bu etkiler tarafından desteklenebilen ve insan üzerinde; 1) Hastalığın tanısı, önlenmesi, izlenmesi, tedavisi veya hafifletilmesi ya da 2) Yaralanma veya sakatlığın tanısı, izlenmesi, tedavisi, hafifletilmesi veya mağduriyetin giderilmesi ya da 3) Anatomik veya fizyolojik bir işlevin araştırılması, değiştirilmesi veya yerine başka bir şey konulması veyahut 4) Doğum kontrolü amacıyla kullanılmak üzere imal edilmiş, tek başına veya birlikte kullanılabilen, imalatçısı tarafından özellikle tanı ve/veya tedavi amaçlı kullanılmak üzere imal edilmiş ve tıbbi cihazın amaçlanan işlevini yerine getirebilmesi için gerekli olan yazılımlar da dahil, her türlü araç, alet, teçhizat, yazılım, aksesuar veya diğer malzemelerdir."* şeklinde tanımlanmaktadır. Tıbbi cihazlar; üreticileri tarafından belirlenen güvenlilik seviyeleri ve performans kriterleri sonrasında uygunluk değerlendirme prosedürünü tamamlayarak piyasaya arz edilir. Tıbbi cihaz ve aksesuarlarının temel gerekliliklerini belirlemek ve bu cihazlar ile aksesuarlarının kullanımı sırasında hastaların, uygulayıcıların, kullanıcıların ve üçüncü şahısların sağlık ve güvenliği açısından ortaya çıkabilecek tehlikelere karşı korunmalarını sağlamak amacıyla tasarımına, sınıflandırılmasına, üretimine, piyasaya arzına, hizmete sunulmasına ve denetlenmesine ilişkin usul ve esasları düzenlemek amacı ile 07.06.2011 tarih ve 27957 sayılı resmi gazetede Tıbbi Cihaz Yönetmeliği yayınlanmıştır [1,2].

Ameliyathaneler ve benzer şartlara sahip hasta bakım ortamlarında kullanılan tıbbi yüz maskeleri, tüm çalışma ortamını korumak için tasarlanır. Bu amaca yönelik imal edilen tıbbi yüz maskelerinin beklenilen performansı gösterip göstermediği kritik performans göstergeleri ile kontrol edilerek belirlenir. Kalite kontrol testleri ayrıca, ürün geliştirme aşamasında; tüketici beklentileri ile işletmenin genel gayesini ilgili yasal gereklilikler çerçevesinde karşılayabilecek ürünün üretilmesini sağlamak üzere, doğru plan ve programların geliştirilerek uygulanmasını ve etkin bir şekilde yürütülmesini sağlamak amacıyla da kullanılır. Tıbbi cihaz sınıfında yer alan tıbbi yüz maskelerinin kritik performans göstergeleri standartlarla belirlenmiş olup bu alanda Uluslararası Standardizasyon Kuruluşu (International Organization for Standardization-ISO)`nun yayınlamış olduğu ve Türk Standardları Enstitüsü`nce uyumlaştırılmış olan TS EN 14683:2019+AC standardı,

ilgili koruma seviyelerine sahip iki tip tıbbi yüz maskesini tanımlamakta ve performans kriterlerini belirlemektedir [3-5]. Asgari olarak, Tip I tıbbi yüz maskeleri özellikle epidemi veya pandemi durumlarında enfeksiyonun yayılma riskini azaltmak amacıyla kullanılmaktadır. Tip II tıbbi yüz maskeleri ise, ameliyathanelerde veya benzer şartlara sahip tıbbi ortamlarda özellikle profesyonel sağlık çalışanlarının kullanımı için tasarlanmaktadır. Kişi; soluma, konuşma, öksürme, hapşırma vb. durumlarda ağızdaki ve burundaki mukoz zarlardan salgılanan damlacıkları, az veya çok miktarda etrafa yayar. Bu damlacıkların (parçacıkların) büyük bir kısmının çapları 0.5 µm ila 12 µm arasındadır. Hasta kaynaklı patojen etkeni taşıyan damlacıklar, açık ameliyat yarası ve steril donanım gibi hassas alanlar da dahil olmak üzere hava yoluyla yayılarak kişileri enfekte ve ortamı kontamine edebilirler. Bu yollarla enfeksiyonu ve/veya kontaminasyonu önlemede tıbbi maskeler önemli araçlardandır [5]. Bu makalede, tıbbi yüz maskeleri ve güncel kalite kontrol gerekliliklerine, ilgili mevzuat ve standartlar kapsamında değinilmektedir.

Tıbbi Yüz Maskeleri ve Standardı

Tıbbi yüz maskeleri, genellikle kumaş tabakaları arasına yerleştirilen veya kalıp halde oluşturulmuş bir filtre tabakasına sahip tıbbi cihazlardır. Tıbbi yüz maskelerinin öngörülen kullanımı süresince bütünlüğü bozulmamalı, parçalanmamalı, ayrılmamalı veya yırtılmamalıdır. Filtre ve tabaka malzemesi seçiminde temizlik düzeyine dikkat edilmelidir. Maske, kullanıcının burun, ağız ve çenesi üzerine tam kontak sağlayacak şekilde takılabilmesini ve yan taraflarının yüze tam oturmasını sağlayan kısımlara/bir araca sahip olmalı ve bitmiş ürünün hedeflenen performansa sahip olduğu, ilgili kalite kontrol standardı doğrultusunda kanıtlanmış olmalıdır. Bu özelliklere sahip tıbbi maskeler, enfeksiyon etmenlerine ve etkenlerin saçılmalarına karşı kullanıcıyı korumak ve de yayılım riskini azaltmak amacıyla hastalar ve diğer bireyler tarafından kullanılmaktadır [5-6].

Pandemi veya epidemi dönemlerinde kullanılan yüz maskeleri; tıbbi yüz maskeleri ve parçacıklara karşı koruma amaçlı filtreli yarım maskeler (respiratörler) olarak tanımlanan maskelerdir. Tıbbi yüz maskeleri üç katmanlı olup iki dokusuz yüzey kumaş arasında iyi bir filtreleme elde etmek için yüksek lif yoğunluğuna sahip iç katmandan oluşmaktadır. Maskelerden, tıbbi (cerrahi) yüz maskelerinin performans gereklilikleri, TS EN 14683:2019+AC Tıbbi yüz maskeleri - Gereklilikler ve deney yöntemleri standardına tabidir. Parçacıklara Karşı Koruma Amaçlı Filtreli Yarım Maskeler ise kişisel koruyucu donanım olarak ilgili düzenlemelerde belirtilmekte ve bu donanımın piyasaya arzına-serbest dolaşımına ilişkin usul ve esaslar Avrupa Birliği 2016/425 EU numaralı mevzuatı ile 01 Mayıs 2019 tarih ve 30761 sayılı Resmi Gazete`de yayınlanan Kişisel Koruyucu Donanım Yönetmeliği`nde [7] tanımlanmakta ve performans gereklilikleri TS EN 149 standardında [8] belirtilmektedir.

Maskenin doğru seçilmesi, istenen sonucu ve beklenen etkiyi elde etmek açısından önemlidir. Maskeler yüze oturtulma araçları bakımından; kullanıcının kulak arkasına iplerle bağlanarak yerleştirilen maskelerden, kullanıcının burnuna göre şekil alabilen burun kıskaçlı ve başın etrafına bağlanan bantlı maskelere kadar değişkenlik göstermektedir. Bir maskenin kritik performans göstergelerinden olan filtrasyon verimliliği, malzemenin kalitesi ve maskenin kullanıcının yüzüne uyumu gibi birtakım ölçütlere bağlıdır. Maskenin kullanıcının soluk alış verişi sırasında dışarı verilen havadaki nemi emmesi filtrasyon verimliliğinde düşüşe neden olabilmektedir. Özellikle pandemi dönemlerinde enfeksiyonun solunum yoluyla bulaşması durumunda, bulaşın engellenmesi için önemli bir araç olması sebebiyle tıbbi yüz maskelerinin kullanımı artmakta ve pandeminin yayılmasını engellemede etkin bir rol almaktadır. Bu bağlamda yüz maskelerinin biyoyükü kullanıcıda enfeksiyon riski oluşmasını engellemek adına önem arz ederken, bakteri filtrasyon verimliliği ise maskenin kullanım amacına yönelik performansının değerlendirilmesinde önemli bir kriterdir. Mikrobiyolojik açıdan kalite kontrol parametrelerine uygun bir maske ile özellikle pandemi döneminde enfeksiyon riskinin önemli ölçüde azaltılabildiği, Dünya Sağlık Örgütü-DSÖ (World Health Organization-WHO)'ne üye ülkelerin maske kullanımı ile COVID-19 vaka sayılarındaki değişim incelendiğinde görülmektedir ve maske kullanımının önemi, DSÖ tarafından teyit edilmektedir [9-11].

Tıbbi Yüz Maskelerinde Bitmiş Ürün Kalite Kontrol Analizleri

Kullanıcıya sunulmuş (nihai ürün) maskelerin bitmiş ürün olarak sağlamak zorunda olduğu performans gereklilikleri TS EN 14683:2019+AC standardında belirtilmiş olup bunlara ek olarak maskelerde biyouyumluluk testi yapılmaktadır [5,8]. Tablo 1`de tıbbi/cerrahi yüz maskesi türlerine göre sağlanması gereken kriterler belirtilmiştir. Tıbbi yüz maskeleri için, TS EN 14683:2019+AC standardında belirtilmiş analiz yöntemlerine göre kalite kontrol analizleri yapılmakta olup bu standartta yer alan performans testleri; mikrobiyal temizlik, bakteri filtrasyon verimliliği (Bacterial Filtration Efficiency-BFE), hava geçirgenliği (diferansiyel basınç/basınç farkı), sıçrama direnci basıncı (Splash Resistance Pressure-SRP) ve biyouyumluluk (cilt iritasyon testi, sensitizasyon testi, *in vitro* sitotoksisite testi) analizleri olarak yer almaktadır [5]. Yüz maskelerinde mikrobiyolojik kalite Tablo 1'de belirtildiği üzere iki parametre üzerinden gerçekleştirilen analizler ile kontrol edilmektedir. Tabloda belirtilmiş olan Tip I tıbbi yüz maskesi, özellikle epidemi veya pandemi durumlarında enfeksiyonların yayılma riskini azaltmak amacıyla hastalar ve diğer bireyler için kullanılmaktadır. Tip II ve Tip IIR tıbbi yüz maskeleri ise sağlık profesyonellerinin tıbbi işlemlere konu olan alanlarda (ameliyathaneler vb.) kullanımı için tasarlanmış olup Tip IIR maskeler ISO 22609:2004 standardına göre sıçrama dayanıklılığı [12] gerekliliğini sağlamalıdır.

Tablo 1. Tıbbi yüz maskeleri için performans gereklilikleri [5,8].

Deney Adı	Tıbbi Yüz Maskesi Tipleri		
	Tip I	Tip II	Tip IIR
Bakteri filtrasyon verimliliği (BFV) (%)	≥ 95	≥ 98	≥ 98
Basınç farkı/Diferansiyel basınç (Pa/cm^2)	< 40	< 40	< 60
Sıçrama direnci basıncı (kPa)	Gerekli değil	Gerekli değil	≥ 16.0
Mikrobiyal temizlik düzeyi (kob/g)	≤ 30	≤ 30	≤ 30
Biyouyumluluk testleri	Uygun olmalıdır	Uygun olmalıdır	Uygun olmalıdır

Tıbbi yüz maskelerinin kalite kontrol parametreleri olan ve Tablo 1`de yer alan testlerin prensipleri aşağıda açıklanmıştır.

Bakteri filtrasyon verimliliği testi; prensip olarak analiz edilecek olan yüz maskesinin altı aşamalı ayrıştırıcı ve bir aeresol haznesi arasına sıkıştırılması ile maske üzerinden aeresol forma getirilmiş derişimi bilinen *Staphylococcus aureus* mikroorganizmasının yüksek basınç yardımı ile geçirilmesi sonucunda maskeden geçebilen mikroorganizmanın, derişimi bilinen mikroorganizma ile oransal olarak karşılaştırılması işlemidir [5].

Diferansiyel basınç testi/Basınç farkı testi; tıbbi yüz maskesi malzemesinin hava değişim basıncının ölçümü sabit bir hava akış hızında, ölçülen bir yüzey alanından hava çekmek için gereken basınç farkını ölçen bir cihaz ile gerçekleştirilir. Basınç farkını ölçmek için su ile dolu bir diferansiyel manometre kullanılmaktadır. Hava akışının ölçümü bir kütle debimetresi ile gerçekleştirilir. Elektrikli bir vakum pompası yardımıyla deney teçhizatından hava geçirilerek test gerçekleştirilir. Hava akış hızını ayarlamak için bir ince ayar vanası kullanılır [5].

Sıçrama direnci basıncı testi; herhangi bir sebeple gerçekleşen kanama durumunda maskeye kan sıçrama senaryosunun simüle edilmesi işlemidir. Test genel hatlarıyla, yatay olarak tutulan maskeye püskürtülen yapay kanın maskenin kullanım yüzeyine nüfuz etmesinin kontrolüne dayanmaktadır. Herhangi bir şekilde maskenin kullanım yüzeyine kan geçişi maskenin uygun olmadığını göstermektedir [12].

Mikrobiyal temizlik düzeyinin belirlenmesi; tıbbi yüz maskelerinde mikrobiyolojik kalitenin kontrol edildiği diğer bir test ise mikrobiyolojik olarak temizlik düzeyinin belirlenmesidir. Mikrobiyal temizlik düzeyi genel olarak biyoyükün belirlenmesi olarak da tanımlanabilmektedir. Biyoyük, ürünün belirli bir miktarında bulunan mikroorganizma sayısının, koloni oluşturan birim (kob) cinsinden değerini ifade eder ve TS EN 14683:2019+AC standardına göre tıbbi yüz maskelerinin

kalite kontrol parametreleri Tablo 1'de belirtilmiştir. TS EN 14683:2019+AC standardına göre kullanıma uygun bir maskenin mikrobiyolojik yükü 30 kob/g limitinin altında olmalıdır. Tıbbi yüz maskelerinin kalite kontrol gerekliliklerinin belirtildiği bu standartta biyoyük testinin TS EN ISO 11737-1 Ürün üzerindeki mikroorganizma popülasyonunun tespiti standardına göre yapılması belirtilmektedir [13].

Biyouyumluluk testleri; biyouyumluluk testlerinden olan *in vitro* sitotoksisite testi temel olarak tıbbi yüz maskelerinin *in vitro* sitotoksisitesini değerlendirmek için kültürü yapılmış hücrelerin inkübasyonunu ve bir tıbbi cihazla ve/veya bir cihazın özütleriyle doğrudan veya difüzyon yoluyla temas eden kültür hücrelerinin inkübasyonu ile uygun biyolojik parametreler kullanılarak memeli hücrelerin vücut dışı ortamda biyolojik cevabını tayin etmektir [14]. Biyouyumluluk testlerinden bir diğeri olan sensitizasyon testi ise bir materyalin veya ürünün, uzun bir maruziyet süresi boyunca kullanıcıda hassaslaştırıcı etki veya alerjik reaksiyona neden olma potansiyelini değerlendirir. Hassasiyet veya aşırı duyarlılık, bir deney hayvanın cildinin test edilecek cihaza/materyale maruz bırakılması veya cihazdan/materyalden elde edilen özütün deney hayvanının derisine enjekte edilmesi ve/veya topikal olarak uygulanması ile ters reaksiyonların/aksi reaksiyonların gerçekleşip gerçekleşmediğinin belirlenmesi/aranmasıdır [15].

SONUÇ

Teşhis ve tedavi hizmeti veren sağlık kurum ve kuruluşlarında kullanımının yanı sıra pandemi ve epidemi dönemlerinde kullanımı artan tıbbi yüz maskelerinin kalite kontrol gerekliliklerine uyması, beklenen etkinin görülmesi ve ürünün kullanım amacına hizmet edebilmesi yönünden önemli olup ilgili standardına uygun olması en temel özellikleri olarak kabul edilmektedir.

KAYNAKÇA

[1] 07.06.2011 tarih 27957 sayılı Resmî Gazete. Tıbbi Cihaz Yönetmeliği.

[2] Aladağ S, Algın Yapar E. Tıbbi cihazların kalite kontrolünde kullanılan standartlar. Türk Farmakope Dergisi 2020; 5(3): 80-90.

[3] International Organization for Standardization. 23 Ekim 2020 tarihinde https://www.iso.org/home.html adresinden erişildi.

[4] Türk Standardları Enstitüsü. 23 Ekim 2020 tarihinde https://www.tse.org.tr/ adresinden erişildi.

[5] Türk Standardları Enstitüsü. TS EN 14683+AC Tıbbi yüz maskeleri – Gereklilikler ve deney yöntemleri.

[6] European Commission, Directorate-General for Health and Food Safety. Guidance on regulatory requirements for medical face masks (2020). 23 Ekim 2020 tarihinde https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/md_sector/docs/md_guidance-reg-req-med-face-masks.pdf adresinden erişildi.

[7] New Regulation (EU) 2016/425 of the European Parliament and of the Council -Yeni Regülasyon (AB) 2016/425, Kişisel Koruyucu Donanım Yönetmeliği 01 Mayıs 2019 Tarihli ve 30761 sayılı Resmi Gazete.

[8] Türk Standardları Enstitüsü. TS EN 149+A1 Solunumla ilgili koruyucu cihazlar - Parçacıklara karşı koruma amaçlı filtreli yarım maskeler - Özellikler, deneyler ve işaretleme.

[9] Avrupa Farmakopesi 10.2, Avrupa İlaç Kalite ve Sağlık Bakım Direktörlüğü (EDQM), Strazburg, 2020.

[10] Türk Farmakopesi 2017 ve Ekleri, TC Sağlık Bakanlığı, Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, Ankara, 2017-2020.

[11] Coronavirus disease (COVID-19) advice for the public: When and how to use masks 23 Ekim 2020 tarihinde https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/advice-for-public/when-and-how-to-use-masks adresinden erişildi.

[12] International Organization for Standardization (ISO) (2004). Clothing for protection against infectious agents-Medical face masks-Test method for resistance against penetration by synthetic blood (ISO 22609:2004).

[13] International Organization for Standardization (ISO) (2018). Sterilization of health care products – Microbiological methods - Part 1: Determination of a population of microorganisms on products (ISO 11737-1:2018).

[14] International Organization for Standardization (ISO) (2010). Biological evaluation of medical devices - Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity (ISO 10993-5:2010).

[15] International Organization for Standardization (ISO) (2009). Biological evaluation of medicaldevices - Part 1: Evaluation and testing within a risk management process (ISO 10993-1:2009).

T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE İLAÇ VE TIBBİ CİHAZ KURUMU

DERLEME MAKALESİ

Türk Farmakope Dergisi 2020, 5(4): 79-94

© Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu 2020

SEDEF HASTALIĞI ve TEDAVİSİNDE KULLANILAN İLAÇLARA GENEL BİR BAKIŞ

Mustafa Eren SÖNMEZ[1], Oktay EROĞLU[1], Sümeyra TUNA YILDIRIM[2*]

1. Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Erzincan
2. Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya ABD, Erzincan

elmek*: stuna@erzincan.edu.tr

Geliş tarihi: 24.10.2020 / Kabul tarihi: 26.11.2020

ÖZET

Sedef hastalığı hayat boyu süren ve alevlenmelerle seyreden, yaşam kalitesini oldukça etkileyen inflamatuar bir kronik deri hastalığıdır. Dünya genelinde yaklaşık olarak 125 milyondan fazla insanı etkilemektedir. Her ne kadar çeşitli tedavi yöntemleri var olsa da halen sedef hastalığının kesin bir tedavisi bulunmamaktadır. Buna rağmen birçok etkili tedavi seçeneği vardır. Bunlar arasında topikal tedavi, sistemik tedavi ve biyolojik ajanlar mevcuttur. Hafif veya orta dereceli sedef hastalığında, hastaların büyük bir kısmı topikal tedaviden faydalanmaktadır. Eğer topikal tedavi etki göstermezse veya hastalıktan etkilenen vücut yüzeyi topikal tedavi için uygun değilse dermatologlar tarafından değerlendirilme yapıldıktan sonra sistemik tedaviye başlanılabilmektedir. Orta dereceli ile şiddetli sedef hastalığında da oral sistemik tedaviye başvurulmaktadır. Biyolojikler ise geleneksel sistemik tedavinin yeterli olmadığı veya yan etkilerinden dolayı tercih edilemeyeceği zamanlarda kullanılan oldukça güçlü bir tedavi seçeneğidir.

Bu derleme makalesinin amacı, sedef hastalığı hakkında genel bir bilgi verip tedavi yöntemlerinden ve bu tedavi yöntemlerinde kullanılan etken maddeler hakkında yapılan çalışmalardan bahsetmektir.

Anahtar kelimeler: Sedef, Psoriasis, Metotreksat, Asitretin, Siklosporin.

A GENERAL OVERVIEW ON PSORIASIS AND MEDICINES USED IN ITS TREATMENT

ABSTRACT

Psoriasis is a lifelong, chronic, exacerbated inflammatory skin disease that affects the quality of life considerably. It affects approximately more than 125 million people worldwide. Although there are various treatment methods, there is still no definitive psoriasis treatment. Although there is no established treatment method for psoriasis, there are many effective treatment options. These include topical therapy, systemic therapy, and biological agents. In mild or moderate psoriasis, most patients benefit from topical therapy. If topical treatment improved or the body surface affected by the disease is not suitable for topical treatment, systemic treatment can be initiated after evaluation by dermatologists. Oral systemic therapy is also used in moderate to severe psoriasis. Biologics, on the other hand, are a very powerful treatment option used when traditional systemic therapy is not sufficient or cannot be preferred due to side effects.

The purpose of this review article is to give a general information about psoriasis and to mention about the treatment methods and the studies about the active ingredients used in these treatment methods.

Keywords: Psora, Psoriasis, Methotrexate, Acitretin, Cyclosporine.

GİRİŞ

Halk arasında sedef hastalığı olarak bilinen psoriasis hastalığı hayat boyu süren ve alevlenmelerle seyreden, inflamatuar bir kronik deri hastalığıdır. Lezyonlar genellikle simetrik yerleşim gösterir ve keskin sınırlı enflamatuar, eritemli plaklar ile karakterizedir. Diz, dirsek, saçlı deri en sık tutulan bölgeler olmak üzere vücudun her yerinde görülebilmektedir [1,2]. Günümüze kadar dermatolojik bir hastalık olarak değerlendirilse de bugünlerde birden çok sistemi etkileyen bir hastalık olduğunu yapılan çalışmalar desteklemektedir [3]. Psoriasis 125 milyondan fazla insanı etkilemektedir [1]. Dermatoloji polikliniklerine başvuran hastaların %6-8'lik kısmını psoriasis hastaları oluşturmaktadır [4].

Psoriasis tüm dünyada gözlenmesine rağmen prevalansı farklı etnik gruplarda oldukça değişkenlik göstermektedir [4]. Yayınlanan raporlara göre farklı popülasyonlardaki prevalans %0-11.8 arasında değişmektedir. En yüksek prevalans Norveç'tedir [1]. Ülkemizde ise 2002 yılında Kundakçı ve arkadaşlarının 1992-1999 yılları arasında yaptığı çalışmada psoriasis prevalansı %1.3, 2012 yılında Serdaroğlu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise %0.5 olarak bulunmuştur [5,6].

1. ETİYOLOJİ

Psoriasis, üzerinde çok sayıda araştırma yapılmasına karşın nedeni henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Bilimsel kaynaklardaki bilgiler immünolojik, genetik ve çevresel etkenlerin etkileşimi ile meydana gelen karmaşık bir hastalık olduğunu göstermektedir [7].

1.1. Genetik

Psoriasisin beyaz ırkta sık görülürken Eskimolar gibi bazı ırklarda hiç görülmemesi, her iki ebeveyninde psoriasis olanlarda tek ebeveyninde olanlara göre psoriasis gelişim riskinin daha yüksek olması ve monozigot ikizlerde dizigot ikizlere göre psoriasis görülme sıklığının artmış olması, genetik faktörlerin hastalık patogenezinde büyük öneme sahip olduğunu göstermektedir [4].

Yapılan çalışmalarda psoriasis gelişme riski anne ve babadan birinde hastalık varsa %10'a, her iki ebeveyninde psoriasis varsa %50'ye çıkmaktadır [8]. Psoriasis monozigot ikizlerde (%73), dizigot ikizlere (%20) göre daha yüksek oranda görülür. Bu durum psoriasisin genetik temelli bir hastalık olduğunun kanıtı olarak görülmektedir [8].

Etnik gruptan bağımsız olarak psoriasis ile en kuvvetli ilişki HLA-Cw6 geni arasında saptanmıştır. Birinci derece akrabalarında psoriasis saptanan Tip 1 psoriasis tanılı hastalarda HLA-Cw6 sıklığı %85.3 oranında saptanırken Tip 2 psoriasis hastalarında bu oran %14.7 oranında bulunmuştur [9].

1.2. Tetikleyici Faktörler

İlaçlar, enfeksiyonlar, sigara, alkol, stres gibi çevresel faktörlerden etkilenen kişilerde psoriasis hastalığı ortaya çıkabileceği gibi hastalığın şiddetlenmesine de neden olabilir.

1.2.1. Enfeksiyonlar

Özellikle bakteriyel enfeksiyonlar psoriasise neden olabilmekte veya hastalığı şiddetlendirebilmektedir. *Helicobacter pylori*, *Malassesia* türleri, *Stafilokokus aereus*, *Candida albicans*, *papillomavirusler*, *endojen retrovirusler* ve *HIV* enfeksiyonları psoriasisin tetiklenmesinde rol oynamaktadır. Streptokokal üst solunum yolu enfeksiyonlarının özellikle guttat psoriasiste tetikleyici faktörlerden biri olduğundan da söz edilmiştir [8,10].

1.2.2. İlaçlar

Lityum tuzları, beta adrenerjik reseptör blokörleri, beta blokör (labetolol) anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörleri, klorokin, nonsteroidal antiinflamataur ajanlar, tetrasiklin, doksisiklin, penisilin, amoksisilin, ampisilin, interferon, interlökinler, anti- TNF-α ajanlar, nistatin, progesteron, klonidin, amiodaron, digoksin, altın, antimalaryaller, imikimod, fluoksetin, simetidin, gemfibrozil,

karbamezepin ve olanzapin, morfin, prokain, botulinium A toksin, vitamin D analogları gibi birçok farmakolojik ajanın psoriasisi tetiklediği ve psoriasisin alevlenmesinde rol oynadığı bildirilmiştir [10]. Psoriasis alevlenmesinde en sık karşılaşılan ilaçlar beta blokörlerdir [1].

1.2.3. Stres

Sedef hastalığı tanısı alan bireylerin, sedef hastalığı olmayan bireylere göre depresyon düzeyleri daha yüksek tespit edilmiştir [11]. Stres altında olan olgularda psoriasisin daha şiddetli seyrettiği gözlenmektedir. Psoriasis hastalarında fiziksel görünümün bozulması da bu hastalığa sahip bireylerin sosyal yaşamını olumsuz yönde etkilemesi nedeniyle bir stres kaynağı olduğu bilinen bir gerçektir [10].

1.2.4. Sigara ve alkol

Psoriasis ve sigara kullanma alışkanlığı arasındaki ilişkiyi göstermek üzere çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmaların bir kısmında sigara kullanımının özellikle kadınlarda, palmoplantar ve plak tipi psoriasisi tetiklediği gösterilmiştir. Cinsiyete bağlı bu farkın çeşitli hormonal ve reprodüktif faktörlerle ilişkili olabileceği üzerinde durulmuştur. Sigaranın psoriasis oluşumu ve seyrine olan etkisinin birçok farklı mekanizmalarla gerçekleştiği düşünülmektedir. Polimorfonükleer lökositler psoriasis patogenezinde önemli rol oynarlar. Sigara kullanımı bu hücrelerde fonksiyonel ve morfolojik bazı değişikliklere yol açmaktadır [12].

Alkol kullanan kişilerde psoriasis hastalığının daha sık geliştiği ve hastalığın daha şiddetli seyrettiği gözlenmiştir. Alkolizm nedeniyle tedavi gören hastalarda ise psoriasis prevelansı normal popülasyona göre beklenenden üç kat daha yüksek bulunmuştur [1].

1.2.5. Travma

Deride travmatik hasar sonucu psoriasis lezyonlarının ortaya çıkması Köbner fenomeni olarak adlandırılır. Hastaların yaklaşık olarak %25'inde gözlenir [8].

1.2.6. Ultraviyole (Morötesi)

Ultraviyole (UV) radyasyon, orta-şiddetli sedef hastalığının tedavisinde yaygın olarak kullanılan güçlü bir terapötik ajandır. Psoriasis hastaları genellikle güneş ışığı ve UV ışınlarından fayda görseler de bazı hastalarda güneşe maruz kalan alanlarda yeni lezyonlar gelişmektedir [1].

2. KLİNİK

Psoriasis değişken morfoloji, dağılım, şiddet ve seyri olan papüloskuamöz bir hastalıktır. Klinik spektrumu oldukça geniştir. Psoriasisin karakteristik lezyonları simetrik ve keskin sınırlı, yüzeyi sedef veya gümüş rengi skuamla kaplı eritemli, inflamatuar makül ya da papül şeklinde ortaya çıkar. Genellikle 2-3 mm eritemli skuamlı papüler şeklinde başlayan lezyonlar merkezden çevreye doğru genişleyerek yayılırlar zamanla 20 cm'e ulaşabilen geniş, üzeri kalın skuamla kaplı plak lezyonlar haline gelebilirler [1].

Çocuklarda başlangıç genellikle saçlı deri, gövde ve uzuvlarda nokta veya damla şeklinde olur ve genellikle stabil seyreder. Yetişkinlerde ise genellikle ekstansör yüzler diz, dirsek, sakrum ve saçlı deriden başlar. Kaşıntı, yanma gibi semptomlar psoriasis hastalarının %60-90'ını etkilemekte, semptomlar şiddetli psoriasis olgularında daha fazla görülmektedir [1].

Psoriasisin klinik görünümü başlangıç yaşı, lezyonun yerleşim yeri, morfolojik görünümü, tutulan anatomik bölge ve meydana geliş süresine göre farklılıklar gösterebilir. Morfolojik görünüşlerine göre plak, guttat, püstüler, eritrodermik olmak üzere dört farklı klinik paternde sınıflandırılır. Bunlar arasında en yaygın psoriasis şekli kronik plak psoriasistir [13]. Yerleşim yerine göre ise saçlı deri psoriasisi, palmoplantar psoriasis, intertriginöz psoriasis, invers psoriasis, tırnak psoriasisi, psoriatik artrit, yüz genital ve perianal psoriazis, napkin psoriazisi olarak sınıflandırılabilir [1]. Psoriasisin klinik sınıflandırılması Tablo 1'de verilmiştir [1].

Tablo 1. Psoriasisin klinik sınıflanması.

Sınıflama ölçütleri	**Klinik fenotipler**
Başlangıç yaşı	Tip 1 psoriasis – 40 yaş öncesi başlangıç Tip 2 psoriasis – 40 yaş sonrası başlangıç
Vücut yüzey alanı (VYA)'na göre hastalık şiddeti	Hafif şiddetli psoriasis: VYA %5'ten az Orta şiddetli psoriasis: VYA %5-10 Şiddetli psoriasis: VYA %10'dan fazla
Dağılım paterni	İnvers, fleksör, seboreik, yaygın
Morfolojik görünüme göre	Püstüler, Punktat, Guttat, Plak, Numuler Girat, Rupoid, Elefantine, Universal
Anatomik bölge	Skalp psoriasis, palmoplantar psoriasis, genital psoriasis, tırnak psoriasisi, anal psoriasis
Yayılım hızına göre	Stabil psoriasis Stabil olmayan psoriasis

3- TANI VE AYIRICI TANI

Psoriasis tanısında klinik muayene ve histopatolojik incelemelerden, hastalığın ayırıcı tanısında psoriasise özgü bazı klinik fenomenlerden faydalanılır. Psoriasis lezyonlarının üzerindeki plaklar sert bir cisimle kazınırsa kuru beyaz lameller şeklinde dökülürler. Bu dökülme "mum lekesi fenomeni" olarak adlandırılır [10,14]. Skuam plakları tamamen kaldırıldığında lezyon yüzeyinde noktasal kanamalar gözlenir. Bu duruma "Auspitz belirtisi" adı verilir. Auspitz fenomeni, mum lekesi fenomeni ile birlikte psoriasis tanısında önemlidir [10,14]. Tüm skuamların kaldırılmasının ardından lezyon üzerinden yapışık nemli bir tabaka daha kaldırılabilir. Buna da "Son Zar Fenomeni" denir [10,15]. Lezyonsuz deride travma ile lezyon oluşmasına "Koebner fenomeni" denir. Lezyon oluşumu travmayı takiben genellikle 7-14 gün içerisinde gelişir [10,15]. "Ters Koebner" ya da "Renbök fenomeni" olarak adlandırılan bulguda ise lezyonlu derinin travmaya uğramasının ardından gerileme izlenir [15]. Hastalığın tanısında spesifik bir laboratuvar bulgusu bulunmamaktadır [1]. Psoriasis ayırıcı tanısında incelenmesi gereken hastalıklar Tablo 2'de belirtilmiştir [2].

Tablo 2. Psoriasis ayırıcı tanısı.

Tırnak Tutulumu	Onikomikoz, liken planus, kronik dermatit
Saçlı Deri Tutulumu	Seboreik dermatit, kontakt dermatit, tinea kapitis, pemfigus foliaseus, pitriasis rubra pilaris
Gövde ve Ekstremite Yerleşemi	Liken planus, seboreik dermatit, numuler dermatit, mikozis fungoides, pitriasis rosea, sifiliz, parapsoriasis, pitriasis rubra pilaris, ilaç erüpsiyonları, lupus eritematozus, liken simpleks kronikus, pitriasis likenoides kronika
Eritrodermik Psöriazis	Sezary sendromu, pitriazis rubra pilaris, pitriazis rosea, ilaca bağlı eritrodermiler

4- HASTALIK SKORLAMASI ve ŞİDDET BELİRLENMESİ

Hastalık şiddetinin belirlenmesi doğru tedavi seçiminde ve hasta takibinde önemli bir yere sahiptir. Psoriasis uzun yıllardır bilinen ve üzerinde çalışılan bir hastalık olmasına rağmen hastalık şiddetini belirleyen laboratuvar parametresi henüz yoktur. Bu yüzden günümüzde genellikle Psoriasis Alan Şiddet İndeksi (PAŞİ), Vücut Yüzey Alanı (VYA) ve Hekimin Global Değerlendirmesi (HGD) yöntemleri kullanılmaktadır [4,9,15].

Bu yöntemlerin haricinde, Psoriasis Uzun Tabanlı Alan Şiddet İndeksi, Kendinden Yönetilen Psoriasis Alan Şiddet İndeksi, Basitleştirilmiş Psoriasis Alan Şiddet İndeksi gibi birçok şiddet indeksi bulunmaktadır.

4.1. Psoriasis Alan Şiddet İndeksi (PAŞİ)

PAŞİ, kronik plak tip psoriasiste retinoit tedavisini değerlendirmek için kullanılır. Psoriasisin diğer klinik türlerini değerlendirmede uygun değildir. Lezyonların hem şiddeti, hem de alanı dört ayrı anatomik bölge (baş-boyun, gövde, üst ekstremite ve alt ekstremite) için ayrı olarak değerlendirilir. Eritem, skuam ve endurasyonun şiddeti 5 puan üzerinden skorlanır. 0'da hiç tutulum yokken, 1'de hafif, 2'de orta, 3'te şiddetli ve 4'te çok şiddetli tutulum vardır. Tutulan alanın yüzdesi 0-6 arasında puanlanır. 0'da hiç tutulum yokken, 1'de %1-9, 2'de %10-29, 3'te %30-49, 4'te %50-69, 5'te %70-89 ve 6'da %90-100 tutulum vardır. PAŞİ hesaplanırken 4 anatomik bölge, tüm deriye oranına göre değerlendirilir. PAŞİ skoru 0-72 arasında değişir [4,16].

4.2. Vücut Yüzey Alanı (VYA)

VYA, dokuzlar kuralı ile ya da tutulan alanın, hastanın kaç avuçiçi sayısına eşit olduğu hesaplanarak değerlendirilir. Psoriatik lezyonların şiddetini değerlendirmediğinden tek başına VYA plak tip psoriasis şiddetini ölçmede yeterli değildir [4].

4.3. Hekimin Global Değerlendirmesi (HGD)

PAŞİ'den sonra klinik çalışmalarda psoriasis şiddetini ölçmek için en sık kullanılan yöntem HGD'dir. Hastalık şiddeti hakkında subjektif bir değerlendirme yapılmasını sağlayan basit bir yöntemdir. Bu yöntem daha az objektiftir fakat PAŞİ'ye göre avantajı daha pratik uygulanması ve kolay anlaşılabilir olmasıdır [4,15].

4.4. Dermatoloji Yaşam Kalite İndeksi (DYKİ)

Psoriasis hastanın psikososyal durumunu ciddi derecede etkileyebilen kronik bir hastalıktır. Bu yüzden hastalık şiddeti tanımlanırken hastalığın yaşam kalitesi üzerine etkisini hasta tarafından değerlendiren ölçeklere de yer verilmelidir. Bu konuda en çok kabul gören Dermatoloji Yaşam Kalite İndeksi'dir [7]. Psoriasiste hastalık şiddetinin tanımı Tablo 3'te verilmiştir [8].

Tablo.3 Psoriasiste hastalık şiddetinin tanımı.

Psoriasis Şiddeti	Hastalık Şiddet Derecesi
Hafif Plak Psoriasis	VYA ≤10 / PAŞİ ≤10 / HGD ≤2 ve DYKİ ≤10
Orta-Şiddetli Plak Psoriasisi	VYA ≤10 / PAŞİ ≤10 / HGD >2 ve DYKİ >10
	VYA >10 / PAŞİ >10 / HGD >2 ve DYKİ >10

5. SEDEF HASTALIĞININ TEDAVİSİ

Sedef hastalığının belirlenmiş bir tedavi yöntemi olmamasına rağmen birçok etkili tedavi seçeneği vardır [17]. Bunlar arasında topikal tedavi, sistemik tedavi ve biyolojik ajanlar mevcuttur [18].

Hafif veya orta dereceli sedef hastalığında, hastaların büyük bir kısmı topikal tedaviden faydalanmaktadır. Eğer topikal tedavi etki göstermezse veya hastalıktan etkilenen vücut yüzeyi topikal tedavi için uygun değilse dermatologlar tarafından değerlendirilme yapıldıktan sonra sistemik tedaviye başlanılabilir [17]. Orta şiddetli ve şiddetli sedef hastalığında da oral sistemik tedaviye başvurulur [18]. Biyolojik ajanlar ise geleneksel sistemik tedavinin yeterli olmadığı veya yan etkilerinden dolayı tercih edilemeyeceği zamanlarda kullanılan oldukça güçlü bir tedavi seçeneğidir [17].

5.1. Topikal Tedavi

Hafif seyreden sedef hastalığı topikal tedavi olarak kortikosteroitler, D vitamini türevleri, retinoitler, katran, keratolitik ajanlar (üre, salisilik asit, α-hidroksi asit) ve yumuşatıcı nemlendiriciler ile etkili bir şekilde tedavi edilebilir [19].

Topikal kortikosteroitler, betametazon dipropionat ve kalsipotrien gibi topikal bir D vitamini analogu ile veya halobetasol propionat ve tazaroten kombinasyonu gibi bir keratolitik ajan ile kombine bir formülasyonda tek bir ilaç olarak kullanılabilir. Böylece bu kombinasyonlar monoterapi olarak kullanılan her iki maddeden daha yüksek etkililiğe, daha az yan etkiye ve daha uzun remisyona sahip olacaktır [20].

Topikal ajan seçerken anatomik alana, plağın boyutuna ve kalınlığına, ajanın başlangıç tedavisi için mi yoksa idame tedavisi için mi kullanılacağına dikkat edilir [19].

5.2. Sistemik Tedavi

5.2.1. Sistemik tedavide kullanılan etken maddeler ve fototerapi

5.2.1.1. Fototerapi

Fototerapi, özellikle topikal ajanlara yanıt vermeyen sedef hastalığında orta şiddetli ve şiddetli sedef hastalığının temel tedavisidir [17].

Sedef hastalığı tedavisinde kullanılan fototerapi türleri arasında dar bant UV-B, geniş bant UV-B veya psoralen ve UV-A (PUVA) bulunur. Genel olarak, daha etkili olduğu için dar bant UV-B kullanımı geniş bant formuna tercih edilir. Ayrıca daha uygun bir güvenlilik profiline sahip olduğundan dar bant UV-B kullanımı PUVA'ya göre tercih edilmektedir [20]. Fototerapinin kısa dönemli yan etkileri arasında eritem, yanma, kaşıntı ve kabarma bulunurken uzun vadeli yan etkileri arasında karsinogenez ve fotoyaşlanma sayılabilir [19].

5.2.1.2. Metotreksat

Bir anti-neoplastik ajan olan metotreksat aynı zamanda sedef hastalığı da dahil iltihaplı bozuklukların tedavisinde kullanılmaktadır. Metotreksat, proliferasyon yapan keratinositlerin apoptozunu indükleyerek, T17 eksenini inhibe ederek, IL-17 , IL-23A ve interferon-γ ekspresyonunu inhibe ederek anti-psoriatik etki gösterir [22,23].

Metotreksat hamilelik, emzirme döneminde veya karaciğer/böbrek yetmezliği veya alkol sorunları olan hastalarda kullanılmamalıdır [24].

5.2.1.3. Siklosporin

Siklosporin, orta şiddetli ve şiddetli sedef hastalığının tedavisi için kullanılan bir kalsinörin inhibitörüdür. Ayrıca psoriatik artritte de etkinlik göstermektedir. Diğer sistemik ajanlara göre bazı üstünlükleri vardır. Bunlar; hızlı etki başlangıcı ve miyelosupresyon veya hepatotoksisite konusunda daha az yan etkisi olmasıdır. Olumsuz özellikleri arasında ise nefrotoksisite, hipertansiyon, yüksek trigliserit seviyeleri, diş eti hiperplazisi, titreme, hipomagnezemi, hiperkalemi, çeşitli ilaç etkileşimleri ve deri kanserleri ve lenfoma gibi yan etkiler sayılabilir [17].

5.2.1.4. Asitretin

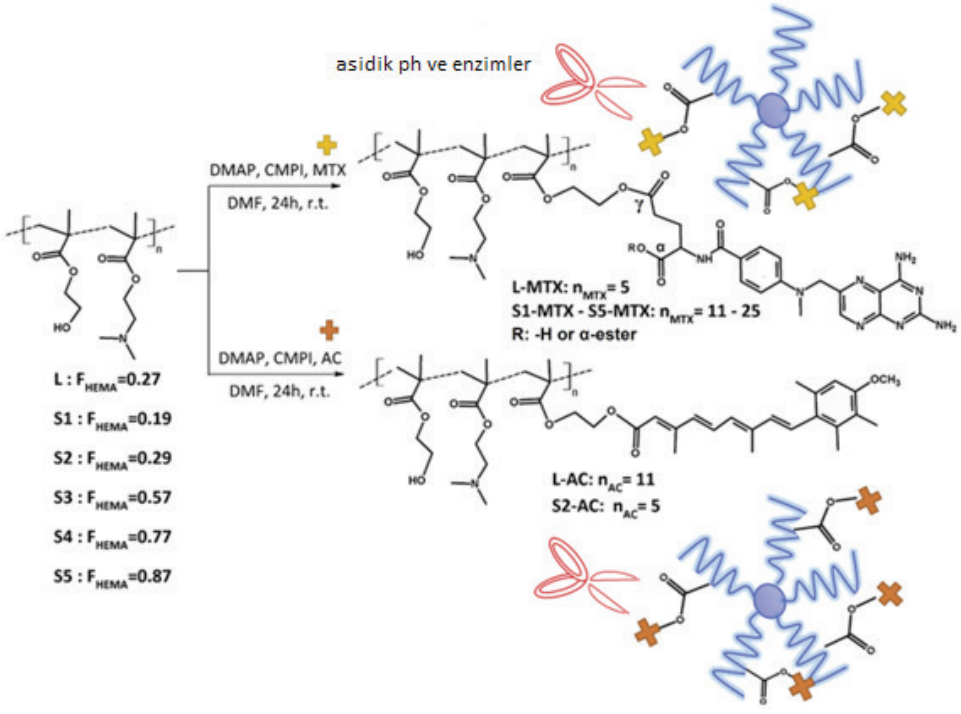
İkinci nesil bir retinoid olarak asitretin , etretinata benzer terapötik etkinlik gösterir ancak çok daha kısa bir yarılanma ömrüne sahiptir [25]. Asitretin, epidermal keratinositlerin proliferasyonunu baskılayabilir, inflamatuar hücrelerin (T, Th1 ve Th17 hücreleri) infiltrasyonunu azaltabilir ve interferon-γ ve interlökin (IL) -17 ekspresyonunu azaltabilir. Bu nedenle asitretin sedef hastalığı tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır [25, 27].

Teratojenik ve uzun yarılanma ömrüne sahip bir maddedir. Bu yüzden gebe kalmayı planlayan kadınların kullanmaması gerekmektedir [24].

5.2.2. Tedavide kullanılan etkin maddelerle ilgili bazı laboratuvar çalışmaları

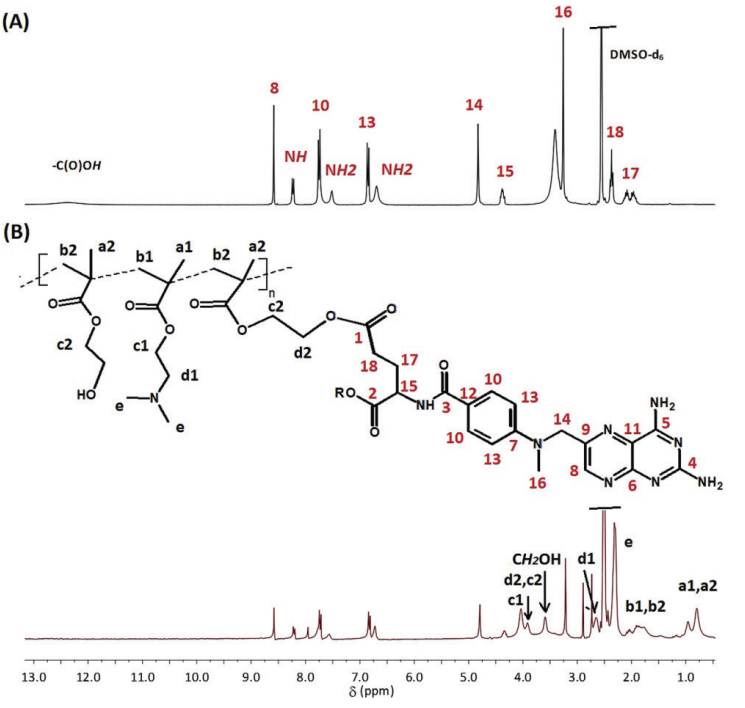
5.2.2.1. Metotreksat ve asitretinin ön ilaç formlarının sentezi ve değerlendirilmesi

Yapılan bir çalışmada metotreksat (MTX) ve asitretinin (AC) suda çözünür polimer-ilaç konjugatları elde edilerek ön ilaç olarak potansiyel kullanımlarına yönelik değerlendirilmeler yapılmıştır [27].

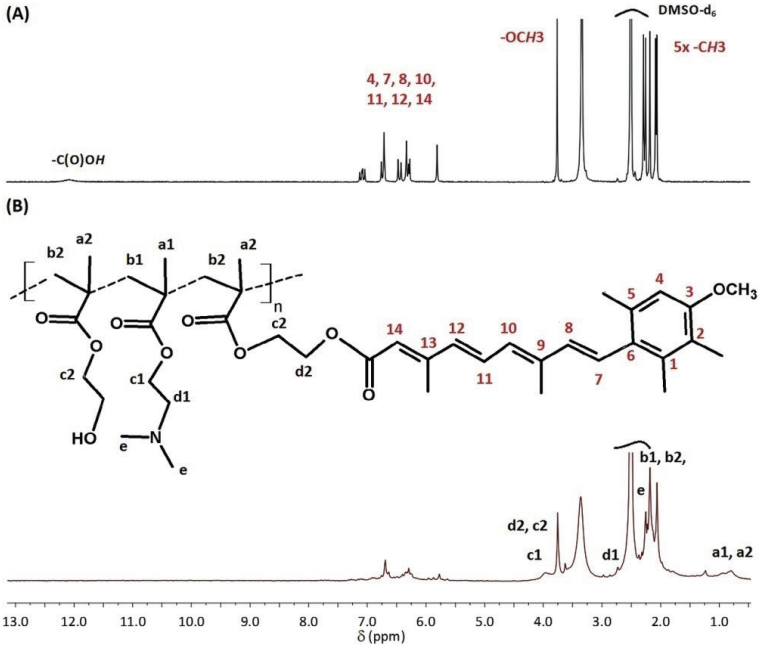


Şekil 1. Katalizör olarak DMAP ve CMPI kullanılarak polimer-ilaç konjugatlarının sentezi.

Elde edilen bilgiler neticesinde ön ilaç formlarının, metotreksat ve asitretin etken maddelerinin potansiyel etkilerinde herhangi bir değişikliğe neden olmadığı, *in vitro* olarak yapılan cilt değerlendirme analizinde ise ön ilaç kullanımı ile bu etken maddelerin yan etkilerinin azaldığı sonucuna varılmıştır. Bulunan sonuçlar itibariyle geliştirilen nano boyutlu polimetakrilat-MTX ve polimetakrilat-AC ön ilaçlar sedef hastalığının topikal tedavisinde merhem veya krem halinde, intravenöz tedavisinde veya hidrojel yamalarındaki matrisler olarak nano boyutlandırılmış polimerik ön ilaçlar olarak kullanılabildiği bildirilmiştir [27]. İlgili yapılar için ^{1}H NMR spektrumları Şekil 2 ve Şekil 3'te verilmiştir [27].



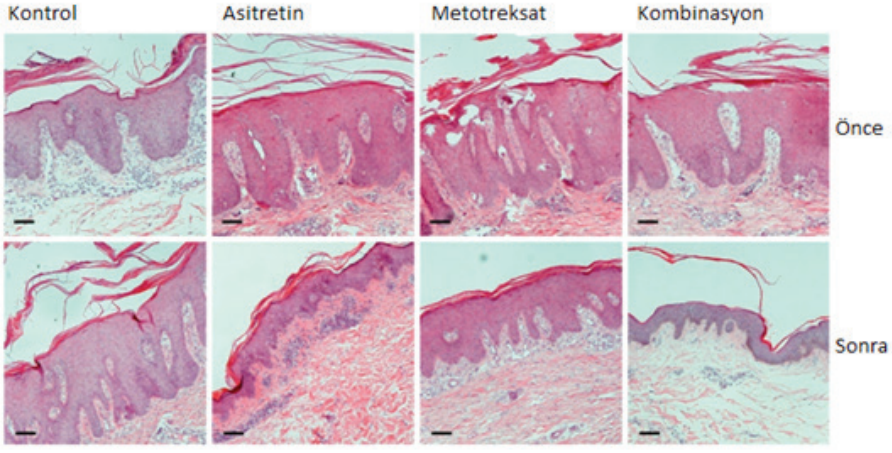
Şekil 2. MTX^{1}H NMR spektrumu, (A), DMSO-d S2-MTX (B).



Şekil 3. DMSO-d AC (A) ve S2-AC (B) ^{1}H NMR spektrumu.

5.2.2.2. Metotreksat ve asitretin kombinasyonu tedavisinin incelenmesi

Metotreksat ya da asitretin etken maddeleriyle yapılan sedef tedavilerinde başarı elde edilmesine rağmen bu iki etken maddenin kombinasyonu sedef hastalığında nadiren kullanılmıştır.

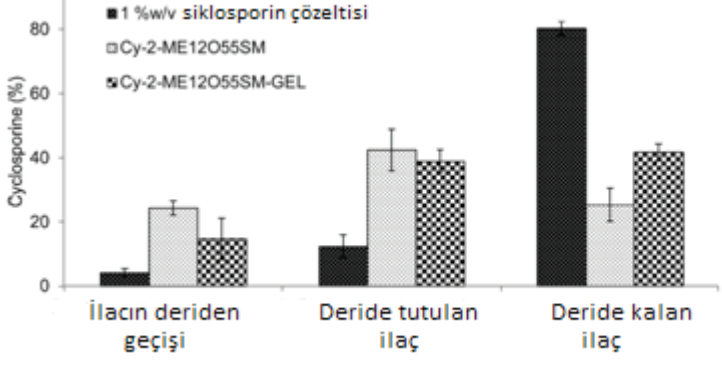


Görüntü 1. Farklı tedavilerle hastalarda cilt lezyonunun histolojik özellikleri.

Metotreksat ve asitretin etken maddelerinin kombinasyonu üzerinde yapılan deneyler neticesinde; bu kombinasyonun sedef hastalığı tedavisinde daha yüksekte etkinlik ve daha az karaciğer fibrozuna neden olduğu sonucuna varılmıştır [28].

5.2.2.3. Siklosporinin süspansiyon formu ile mikroemülsiyon jel formunun sedef hastalığı tedavisinde etkinliğinin karşılaştırılması çalışması

Sedef hastalığında kullanılmak için geliştirilen siklosporinin süspansiyon formunun tedavide daha etkili olabilmesi için uygulanan vücut yüzeyinde daha iyi tutunması ve cilt dokusuna daha yüksek ilaç retansiyonu sağlaması gerekmektedir. Yapılan çalışma ile siklosporinin mikroemülsiyon jel formuyla bu özelliklerin sağlanması planlanmıştır.



Şekil 4. Deri dokusunda tutulan/deri dokusu üzerinde tutulan ve deri yoluyla nüfuz eden siklosporin yüzdesi.

Çalışma neticesinde siklosporin süspansiyonuna kıyasla mükroemülsiyon jelinin cilt dokusuna daha iyi nüfuz ettiği sonucuna varılmış ayrıca tavşan derisinde yapılan deney ile de mikroemülsiyon jelinin tahriş edici olmadığı gösterilmiştir. Çalışma, sedef hastalığının etkili tedavisi için siklosporinin penetrasyonunu ve sürekli salımını iyileştirmek için mikroemülsiyon jel uygulamasına başvurulabileceğini ortaya koymuştur [29].

5.3.Biyolojik ajanlar

Biyolojik ajanlar, inflamatuar immün yanıtların ve cilt lezyonlarının gelişiminden sorumlu olan spesifik sitokinlerin hedeflenen inhibisyonu yoluyla hareket ettikleri için, orta şiddetli ve şiddetli hastalığı olan hastalar için son teknoloji tedaviyi temsil eder [18].

Tümör nekroz faktörü-alfa (TNF-α), psoriasis patogenezinde merkezi rol oynayan bir pro-inflamatuvar sitokindir. TNF-α'nın bloke edilmesiyle sedef hastalığının tedavisinde başarı sağlanmaktadır. Biyolojik ajanlar; siklosporin, asitretin, metotreksat veya fototerapi gibi sistemik tedavilere cevap vermeyen, bu tedavilerin kontrendike olduğu veya tolere edilemediği orta şiddetli ve şiddetli sedef hastalığının tedavisinde kullanılırlar. Ülkemizde biyolojik ajanlardan adalimumab, infliksimab, etanersept, anti-(interlökin-12/23) ustekinumab, sekukinumab, iksekizumab ve tamamen insan kaynaklı monoklonal sertolizumab pegol sedef hastalığı tedavisinde onaylıdır. Diğer biyolojik ajanlar arasında brodalumab, guselkumab ve tildrakizumab bulunmaktadır [8].

Bunun yanında Malassezia genusuna ait mayalar ile sedef hastalığı arasında güçlü bir ilişki olduğu düşünülmektedir. Bu mayalar Pityriasis versicolor ve Malassezia follikülitine neden olmakla birlikte sedef hastalığı ve atopik dermatit gibi yaygın cilt hastalıklarının patogenezinde rol oynamaktadır. Bu nedenle bunların tedavisinde tıbbi bitkilerden de yararlanılabilmektedir [30].

SONUÇ

Sedef hastalığı oldukça fazla bireyin hayatını etkilemektedir. Hafif şiddetli sedef hastalığı topikal tedavi ile orta şiddetli ve şiddetli sedef hastalığı ise sistemik tedavi ve biyolojik ajanlarla tedavi edilmeye çalışılsa da kesin bir tedavi sunulamamaktadır. Bundan dolayı günümüzde sedef hastalığına kesin bir çözüm getirmek adına birçok laboratuvar çalışması yapılmaktadır. Yapılan bu çalışmalar neticesinde hastalığa kesin bir tedavi biçimi elde edilemese de tedavi için daha etkin yöntemler ve daha başarılı dozaj formları sunulmaktadır.

KAYNAKÇA

[1] Öztürk S. Psoriasis tanılı hastalarda sistemik tedavi etkinliklerinin psoriasis yaşam kalitesi ve fonksiyonları üzerinden değerlendirilmesi ve tedavi sürekliliğini etkileyen faktörler. Uzmanlık Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Trabzon, 2020.

[2] Boehncke WH, Schön MP. Psoriasis. Lancet, (2015); 386(9997): 983-94.

[3] Gürer MA, Adışen E. Psoriasis, genel bilgiler, epidemiyoloji. TürkdermDeri Hastalıkları ve Frengi Arşivi Dergisi, (2008); 42(1): 15–17.

[4] Acar A. Psoriasis şiddetini belirlemede psoriasis alan şiddet indeksi ve hekimin global değerlendirmesi yöntemlerinin kıyaslanması. Uzmanlık Tezi, Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İzmir, 2014.

[5] Kundakci N, Türsen U, Babiker MO, Gürgey E. The evaluation of the sociodemographic and clinical features of Turkish psoriasis patients. Int J Dermatol., (2002); 41(4): 220-224.

[6] Serdaroğlu S. The Prevalence of psoriasis and vitiligo in a rural area in Turkey. J. Turkish Acad. Dermatology, (2012); 6(1): 2–6.

[7] Erkan E. Psoriasis polikliniğinde takip edilen hastalarda komorbiditeler ve psoriasis şiddeti ile ilişkisinin retrospektif değerlendirilmesi. Tıpta Uzmanlık Tezi, İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul, 2017.

[8] Cingöz K. Biyolojik ajanların psoriasis tanılı hastalarda lipid profili ve hemogram parametrelerine etkisi. Uzmanlık Tezi, Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Manisa, 2020.

[9] Gündoğdu M. Biyolojik ajan kullanan psoriasis hastalarında tedavi etkinliğinin psoriasis alan şiddet indeksi ve yaşam kalite indeksleri ile değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi, Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Ankara, 2016.

[10] Arslan S. Psoriasis ve periodontal hastalıklar arasındaki ilişkinin incelenmesi. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2016.

[11] Uzdu YD. 18-60 yaş arası sedef hastalığı tanısı almış bireylerin; depresyon ve sosyal kaygı düzeyi ile 18-60 yaş arası sedef hastalığı tanısı almamış bireylerin depresyon ve sosyal kaygı düzeylerinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Beykent Üniversitesi, Sosyal Bilimler Enstitüsü, İstanbul, 2016.

[12] Kölükfakı Şahin HŞ, Artüz RF, Yalçın B, Allı N, Gür G. Sigara ve obezitenin psoriasis üzerindeki etkisi. Dermatoz. (2013); 4: 123-126.

[13] Erbudak E. Kronik plak psoriasisli hastalarda fototerapinin yaşam kailtesi üzerine etkisi. Uzmanlık Tezi, İstanbul Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İstanbul, 2013.

[14] Raychaudhuri SK, Maverakis E, Raychaudhuri SP. Diagnosis and classification of psoriasis, Autoimmunity Reviews, 2014.

[15] Berth-Jones J, Grotzinger K, Rainville C, Pham B, Huang J, Daly S et al. A study examining inter- and intrarater reliability of three scales for measuring severity of psoriasis: Psoriasis area and severity index, physician's global assessment and lattice system physician's global assessment. Br J Dermatol, (2006); 155(4): 707-13.

[16] Puzenat E, Bronsard V, Prey S, Gourraud P-A, Aractingi S, Bagot M et al. What are the best outcome measures for assessing plaque psoriasis severity? A systematic review of the literature. J Eur Acad Dermatol Venereol., (2010); 24(2): 10-16.

[17] Kim WB, Jerome D, Yeung J. Diagnosis and management of psoriasis. Canadian Family Physician, (2017); 63: 278-285.

[18] Young M, Aldredge L, Parker P. Psoriasis for the primary care practitioner. J. Am Assoc Nurse Pract, (2017); 29: 157-178.

[19] Brandon A, Mufti A, Gary Sibbald R. Diagnosis and management of cutaneous psoriasis: A review. Adv Skin Wound Care, (2019); 32: 58-69.

[20] Armstrong AW, Read C. Pathophysiology, clinical presentation, and treatment of psoriasis: A review. JAMA, (2020); 323(19): 1945-1960.

[21] Fortina AB, Bardazzi F, Berti S, Carnevale C, Lernia VD, Hachem ME et al. Treatment of severe psoriasis in children. Eur J Pediatr., (2017); 176(10): 1339-1354.

[22] Greb JE, Goldminz AM, Gottlieb AB. Insights on methotrexate in psoriatic disease. Clin. Immunol., (2016); 172: 61-64.

[23] Elango T, Thirupathi A, Subramanian S, Ethiraj P, Dayalan H, Gnanaraj P. Methotrexate treatment provokes apoptosis of proliferating keratinocyte in psoriasis patients. Clin. Exp. Med., (2016); 31-4.

[24] Osmancevic A, Ståhle M. Behandling av psoriasis: från tjära till biologiska läkemedel - Terapiarsenalen har förändrats dramatiskt – nya läkemedel kan ge helt läkt hud till fler patienter. Lakartidningen. (2017); 114.

[25] Carretero G, Ribera M, Belinchón I, Carrascosa JM, Puig LI, Ferrandiz C et al. Guidelines for the use of acitretin in psoriasis, Psoriasis Group of the Spanish Academy of Dermatology and Venereology. Actas Dermosifiliogr., (2013); 104 (7): 598-616.

[26] Niu X, Cao W, Ma H, Feng J, Li X, Zhang X. Acitretin exerted a greater influence on T-helper (Th)1 and Th17 than on Th2 cells in treatment of psoriasis vulgaris. J. Dermatol., (2012); 39 (11): 916-921.

[27] Mielanczyk A, Mrowiec K, Kupczak M, Mielanczykc Ł, Scieglinska D, Gogler-Piglowska A et al. Synthesis and *in vitro* cytotoxicity evaluation of star-shaped polymethacrylic conjugates with methotrexate or acitretin as potential antipsoriatic prodrugs. European Journal of Pharmacology, (2020); 866 (12): 172804.

[28] An J, Zhang D, Wu J, Li J, Teng X, Gao X et al. The acitretin and methotrexate combination therapy for psoriasis vulgaris achieves higher effectiveness and less liver fibrosis. Pharmacological Research, (2017); 121 (1), 158-168.

[29] Sonia S, Furqan A, Priya S, Manish R, Kinjal M, Arti R, et al. Cyclosporine laden tailored microemulsion-gel depot for effective treatment of psoriasis: *In vitro* and *in vivo* studies. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, (2020); 186, 110681.

[30] Şahiner A. Seboreik dermatit ile ilişkili *Malassezia* türlerine tıbbi bitkilerin etkinliği. Türk Farmakope Dergisi, (2019); 4(1): 108-113.

T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE İLAÇ VE TIBBİ CİHAZ KURUMU

DERLEME MAKALESİ

Türk Farmakope Dergisi 2020, 5(4): 95-108

© Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu 2020

DEMİR ELEMENTİNİN HASTALIKLARIN OLUŞUMU VE TEDAVİSİNDEKİ ÖNEMİ

Ferit OKTAY[1], Reyhan Sena GÜĞERÇİN[1], Sümeyra TUNA YILDIRIM[2*]

1. Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, SBE Farmasötik Bilimler ABD, Erzincan.
2. Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya ABD, Erzincan.

elmek*: stuna@erzincan.edu.tr

Geliş tarihi: 24.10.2020 / Kabul tarihi: 27.11.2020

ÖZET

Demir, önemli bir mikronutrienttir, eksikliği ve fazlalığı çeşitli hastalıkların görülmesine neden olabilir. Özellikle hücre büyümesi ve çoğalmasında, bakır ve kalsiyum gibi bazı minerallerin emiliminde, oksijen taşıma ve depolama da yaşamsal öneme sahip bir elementtir. Demir metabolizması bozuklukları insanlarda en çok görülen hastalıklardandır. Demir metabolizması bozuklukları, insanlarda en sık görülen hastalıklardandır ve diyette fakir beslenme, emilim bozuklukları ile aşırı kan kayıplarında ortaya çıkabilir. Anemi ise bir hastalık olmayıp kanın oksijen taşıma kapasitesini etkileyen çok faktörlü bir bozukluk olarak görülür. En sık görülen laboratuvar parametre bozukluklarındandır. Ülkemizde, özellikle üreme dönemindeki kadınların büyük çoğunluğunda demir eksikliği görülürken anemi görülme oranı daha düşüktür. Demirin, yeteri kadar vücuda alınamaması veya emiliminin olumsuz olarak etkilendiği durumlarda kullanılan demir preparatları farklı yollarla alınabilmektedir. Vücuttaki demir miktarına bağlı olarak oral yoldan alınımı veya parenteral demir tedavisi ile tedaviye başlanabilmektedir. Demir emiliminin kafi gelmediği durumlarda, oral demir tedavisine rağmen aneminin düzelmediği hastalarda ve oral demir tedavisini tolere edemeyen hastalarda parenteral demir tedavisi tercih edilir. Parenteral demir tedavisinde hemoglobin, demir ve ferritin gibi anemi parametrelerini kısa zamanda yükseltebilmektedir. Ayrıca semptomatik demir eksikliği anemisi olan hastalarda semptomları kısa sürede düzelterek kan transfüzyonu gereksinimini azaltmasından dolayı oral yoldan tedaviye göre üstün yanları bulunmaktadır.

Anahtar kelimeler: Anemi, Demir, Demir eksikliği.

THE ROLE OF IRON IN THE EPIDEMIOLOGY AND TREATMENT OF DISEASES

ABSTRACT

Iron is an important micronutrient, its deficiency and excess can cause various diseases. Especially in cell growth and proliferation, absorption of some minerals such as copper and calcium, oxygen transport and storage is also a vital element. Iron metabolism disorders are among the most common diseases in humans. Disturbances in iron metabolism can occur in poor diet, absorption disorders and excessive blood loss. Anemia is not a disease but a multifactorial disorder that affects the oxygen-carrying capacity of the blood. It is the most common laboratory parameter disorder. In our country, while iron deficiency is observed in the majority of women, especially in the reproductive period, the rate of anemia is lower. Iron preparations used in cases where the body cannot be taken into the body sufficiently or the absorption is negatively affected can be taken in different ways. Depending on the amount of iron in the body, oral intake or parenteral iron treatment can be started. Parenteral iron treatment is preferred in patients who cannot tolerate oral iron treatment and in patients whose iron absorption is inadequate and anemia does not improve despite oral iron treatment. Parenteral iron therapy can increase anemia parameters such as hemoglobin, iron and ferritin in a short time. In addition, in patients with symptomatic iron deficiency anemia, it has superior methods compared to oral treatment because it reduces the need for blood transfusion by improving symptoms in a short time.

Keywords: Anemia, Iron, Iron deficiency.

GİRİŞ

Metaller vücuttaki çok sayıdaki önemli bileşenlerin bir parçası olup özellikle biyokimyasal süreçlerde önemli rol oynamaktadırlar [1]. Demir de özellikle biyokimyasal reaksiyonlarda bir kofaktör olarak görev almakta ve oksijene karşı yüksek afinite göstermektedir [2,3].

Demir temel tepkimelerin katalizinde de kullanılan yaşam için vazgeçilmez bir elementtir. Hem deki demir ferröz (Fe^{+2}) iyonu halinde iken non-hem demirin çoğu ferrik (Fe^{+3}) iyon halindedir. Demir, tüm hücreler için esansiyel bir element olduğundan eksikliği durumunda anemiye neden olduğu gibi birçok sistem de etkilenmektedir. Büyüme ve gelişme geriliğine neden olabilmektedir. Demir eksikliği, ülkemizde ve tüm dünyada en çok rastlanılan beslenme kaynaklı eksikliktir. Özellikle küçük çocuklar ve kadınlar da sıklıkla görülmektedir [4]. Ayrıca ülkemizde demir eksikliği ve Demir Eksikliği Anemisi (DEA), yaş grubu olarak çocuklar üzerinde yapılan bazı araştırmalarda %15.2 ile %62.5 arasında olduğu görülmüştür [5]. Vücutta negatif demir dengesi oluştuğunda (kronik kan kayıpları, demire olan ihtiyacı artıran durumlar, emilim bozuklukları) depolardan demirin harekete geçmesi ile hemoglobin (Hb) sentezi sürdürülür. Hemoglobin sentezi için gerekli olan depo demiriyle demir sağlamadığı durumda demir eksikliği anemisi ortaya çıkar. Genellikle hastanelere başvuran hastaların fazlasının anemi hastası olduğu ve gelişmekte olan ülkelerde görülme oranının daha fazla olduğu bilinmektedir.

1. DEMİR

1.1 Demirin Fonksiyonları

Demir, önemli bir mikro besin olup yetişkin bir insan vücudunda ortalama 3-5 gram demir bulunmaktadır. Bunun %65'i hemoglobine, %4'ü miyoglobine, %1'i çeşitli hem bileşiklerine, %1'i de plazmada transferrine bağlıdır. Geri kalan %15-30 kadarı da ferritin halinde retiküloendoteliyal sistem ve karaciğer parankim hücrelerinde (Hepatosit) depo edilir. Hemoglobin, oksijen taşımada görevli alyuvarların yapısında bulunan porfirin türevlerinden bir protein olup kana kırmızı rengini verirken miyoglobin ise kaslardaki oksijen tutulumunda görev alan bir proteindir [6].

Demirin büyük bir oranı kanda ve kırmızı kan hücrelerindeki hemoglobinde bulunur. Hemoglobin, dokulardaki oksidasyon olaylarını sağlar. Ayrıca demir, hücrenin enerji metabolizmasında önemi olan enzimlerin yapı ve fonksiyonunda ve hücre poliferasyonunda rol oynayan önemli bir nutrienttir [7]. DNA sentezi de demire bağımlı olarak gerçekleşmektedir. Demir, birçok metabolik yolaklarda kofaktör işlevi gören önemli bir redoks elementidir. DNA metabolizmasında, çoklu DNA onarım enzimleri (helikazlar, nükleazlar, glikozilazlar) ve ribonükleotit redüktaz da dahil çalışmak için demiri vazgeçilmez bir kofaktör olarak kullanır [8].

1.2 Demirin Kaynakları

Vücutta bulunan demirin büyük miktarı hemoglobin ve miyoglobin de bulunur [9]. Beslenmeye bağlı olarak durum farklılık gösterir. Erkeklerde günde 10 mg, kadınlarda 15-18 mg, hamilelerde ise 27-30 mg demir tüketimi tavsiye edilmektedir. Et ve et ürünleri, yumurta, yeşil yapraklı sebzeler ve tahıllar demir kaynağıdır. Pekmez ve kuru meyveler de demirce zengindirler. Günlük besinsel demir gereksinimi; erkeklerde 1 mg**,** ergenlik döneminde 2-3 mg**,** *üreme yaşındaki* kadınlarda 2-3 mg**,** gebelerde ise 3-4 mg'dır [10].

1.3 Demirin Metabolizması

Demir, taşınması ve depolanması esnasında hücrelerde ve vücut sıvılarında daima iki oksidasyon durumunda ferrik veya ferröz şekilde bulunmaktadır. Demirin bu elektron değişimi, yükseltgenme-indirgenme aktivitesi, bir yandan gerekli iken, diğer yandan, demir fazlalığı durumlarında oluşan serbest demir, prooksidan olarak serbest oksijen radikallerinin oluşmasına neden olur. Bu nedenle demir hiçbir zaman serbest bırakılmamaya çalışılır [11]. Demir, enterositin bazolateral tarafından ferroportin ile dışarı verilen ve hefastin ile okside edilerek ferrik hale getirildikten sonra transferrine bağlanır [12]. Transferrin ilk olarak karaciğerde sentezi gerçekleştirilen bir glikoproteindir. Depo demiri eksikliğinde sentezi artar, artan depo demiri varlığında ise sentezi azalır. Normal şartlarda transferrinin 1/3'ü demire bağlıdır. Serum demirinin transferrin bağlanma bölgesine oranı transferrin

doygunluğunu gösterir ki bu oran %15-40 arasındadır [7]. Transferrinin üzerindeki bütün bölgelerin toplamı, toplam demir bağlama kapasitesini (TDBK) verir [13]. Kandaki artmış demir, hemosiderin ve ferritin şeklinde vücudun tüm hücrelerinde özellikle karaciğer, retiküloendotelyal hücreler ve kemik iliğinde eritroit öncül hücrelerinde depolanır [13]. Depo demiri ferritini, karaciğerde apoferritin ile demirin birleşmesi sonucu oluşur. Ferritin molekülünün sentezinin düzenlenmesi ferritin mRNA'sı ve ''iron responsive elements'' (IRE) ve ''iron responsive protein'' (IRP) olarak adlandırılan moleküller tarafından düzenlenmektedir. Demir eksikliğinde IRP'ler ferritinin IRE'lere bağlanarak ferritin sentezini önler. Yaklaşık her mikrogram plazma ferritini 8 mg depo demiri içerir, bu düzey yaş ve cinsiyet durumuna göre değişebilir. Bir kısmı da plazmada bulunan ferritinin, plazmadaki düzeyi selüler miktarı ile orantılıdır [7]. Ancak bir akut faz başlangıç maddesidir ve 10-12 µg/dL değerine ulaştığında demir eksikliği göstergesidir. Ferritinin katabolizması sonucunda ortaya çıkan demir vücut tarafından tekrar kullanılır ya da amorf suda çözünmeyen ferritinden daha fazla miktarda demir içeren hemosiderine dönüşür. Demirin hemosiderinden mobilizasyonu, ferritininkine kıyasla daha yavaştır [7].

Hücre yüzeyindeki transferrin reseptör (TFR) sayısı, demir ihtiyacını gösterir. TFR sayısı, demir havuzu ile ters ilişkilidir. TFR sayısının demir eksikliğinde arttığı ancak serum demir düzeyleri yükseldiğinde azalma olmadığı bilinmektedir [7]. Normal koşullarda eritrosit öncül hem yapımı için gerekenden fazla protoporfirin sentezler ve bu fazlalık hücrede yaşamı boyunca kalır, buna serbest eritrosit protoporfirini (FEP) denir. Kandaki hipokromik hücrelerin miktarı ile korelasyon gösterir ve demir eksikliğinde aneminin ciddiyetinden çok süresi ile ilgili bir artış oluşabilir [11]. Hepsidinin keşfinden sonra organizmada demir dengesinin karaciğerde hepatositlerde sentezlenen bir antimikrobial protein olan hepsidin ile olduğu anlaşılmıştır. Duodenal demir emilimini ve makrofaj demirinin salınışını engelleyerek vücuttaki demiri azaltarak demir dengesini düzenlemektedir [12].

1.4 Demirin Emilimi

Diyetle alınan demir miktarı ve şekli, demirin biyoyararlanımı, bağırsak mukoza hücrelerinden demir emiliminin kontrolü, kemik iliği eritropoetik etkinliği ve vücut demir depoları demir emilimini etkileyen durumlardır [14]. Diyet ile demir emilimi ilk olarak duodenum ve proksimal jejunumda gerçekleşir. Günlük diyet ile 20-25 mg demir alınmasına rağmen başta duodenumdan olmak üzere 1-2 mg emilir ve 1-2 mg kadar demir dışkı ile atılır [12]. Diyette alınan demirin %90 kadarı non-hem, geri kalanı da hem demiri şeklindedir. Non-hem demirin emilim oranı kişinin demir deposunun durumu ve diyetin içerdiği diğer besinlerden etkilendiği için çok değişir. Non-hem demirin %5'i emilirken, hem-demirin %35'i emilir. Tükenen demir depolarıyla veya eritrosit yapımının hızlandığı durumlarda gıda içindeki demir emilimi %40 oranına kadar artırılabilir. Demir alımının düzenlenmesiyle demir dengesi sağlanır [12]. Hepsidin (hepatik bakterisidal protein) karaciğerde sentezi gerçekleşen bir peptittir. Hücre dışındaki demirin emilimini bağırsaktan düzenleyerek kontrol eder. Hepsidinin

demir yüklenmesiyle birlikte sentezi artar, anemi ve hipoksi durumlarında miktarı azalır. Hepsidin miktarının artmasıyla demir emiliminin arttığı belirlenmiştir [7].

1.4.1 Demir Emilimini Etkileyen Faktörler

Demir emilimini etkileyen faktörler;

- Diyetteki demirin miktarı, ortam pH'si, diyet demirinin şelasyonu (Lümen içi faktörler)
- Anatomik faktörler, intestinal hücrelerin azalması, intestinal motilite (Mukozal faktörler)
- Vücut demir depoları, demir döngüsü (Eritropoez, retiküloendotelyal sistem engellemesi), hipoksi'dir [7].

Bazı ilaçlarla birlikte kullanımı ile demir emilimi etkilenebilir. Antiasitler, magnezyum, kalsiyum veya çinko içeren ilaçlarla kullanımla demirin emilimi azalır. Demir ise bifosfonatlar, tetrasiklin, kinolon gibi ilaçların emilimini düşürür. Bu tür ilaçlarla alınan demir ilaçlarıyla arasında en az 2 saat arayla alınması önerilir. Demirin, çinko ile birlikte alınması önerilmez [15]. Besinlerinde demir üzerinde etkisi oluşmaktadır. Beslenmeyle C vitamini ve protein alınması, bitkisel kaynaklı demirin emilimini arttırır. Bu yüzdendir ki C vitamini alınması önemlidir. Tahıllarda bulunan fitalatlar, demir emilimini olumsuz yönde etkilediğinden özellikle ekmek mayalandırılarak yapılmalıdır. Bir diğer demir emilimini azaltan durum yemekle çay tüketimidir, bu nedenle öğün aralarında açık çay olarak tüketim yapılmalıdır.

1.5 Demirin Taşınması ve Depolaması

Demir kan plazmasında, ince bağırsaktan absorbe edilip apotransferrine bağlanarak transferrin halinde taşınır [16]. Karaciğer hücrelerinde ve çok daha düşük miktarlardaki kemik iliğinin retükoendotelyal hücrelerinde, kan içerisindeki fazla miktardaki demir depo edilir. Demir ile apoferritin birleşerek ferritin olarak depo edilmektedir [16]. Plazmadaki ferritin düzeyi vücuttaki demir depo miktarını yansıtmaktadır [9].

2. DEMİR EKSİKLİĞİ

Demir eksikliğinde tanıda, mutlak demir eksikliği ve fonksiyonel demir eksikliği olarak iki ana biçim ortaya çıkmaktadır. Mutlak demir eksikliği, toplam vücut demir depoları düşük veya tükendiği zaman oluşur, fonksiyonel demir eksikliği ise toplam vücut demir depolarının normal ya da artmış olduğu bir bozukluktur fakat bu durumda demir tedariği kemik iliği için yetersizdir. Mutlak

ve fonksiyonel demir eksiklikleri bir arada bulunabilir. Fonksiyonel demir eksikliği birçok akut ve kronik enflamatuvar durumunda oluşabilir ve hepsidin (demirin ana düzenleyicisi) patogenez de anahtar bir role sahiptir [17]. Demir eksikliğinde kritik belirteç olarak anemi kullanıldığı için demir eksikliği ve demir eksikliği anemisi çoğunlukla birbirinin yerine kullanılan terimlerdir. Oysaki demir eksikliği anemi olmadan da oluşabilir ve dokular bu eksiklikten etkilenebilir. Demir eksikliği farklı safhalarda ortaya çıkar. Demir ihtiyacı alımın altında kalırsa, ilk önce demir depolarında azalma olur, bu sırada plazma ferritin düzeyi ve plazma transferin doygunluğu azalır. Demir depoları tüketildikten sonra hemoglobindeki azalmayla negatif demir dengesi kendini gösterir. Sonuç olarak vücuttaki demir depolarının azalması demir eksikliği, daha ileride anemi gelişmesi ise demir eksikliği anemisi olarak tanımlanmaktadır [18].

Vücutta demir eksikliği kronik kan kaybı, demire ihtiyacın artması, absorbsiyon bozukluğu gibi durumlarla meydana geldiğinde depolardan demirin aktifleşmesiyle Hb sentezi gerçekleşir, depo demiri Hb sentezi için gerekli demiri sağlayamadığı takdirde demir eksikliği anemisi (DEA) oluşur [19]. Çeşitli nedenlere bağlı olarak demir depolarındaki azalma nedeniyle kadınlarda demir eksikliğinin görülme ihtimali, erkeklere oranla daha fazladır. Adelosan dönemde kan hacminin artmasıyla yetersiz demir depoları oluşur ve yetersiz alımda depoların azalmasına sebep olur. Beslenmeyle yetersiz demir alımı kadınların çoğunda demir eksikliği durumunu ortaya çıkarır, hatta sosyoekonomik düzeyi yüksek toplumlarda bile gebelikle birlikte görülme ihtimali oluşabilir [20]. Üç faza ayrılan demir eksikliği oluşumunun ilk fazı vücudun demir ihtiyacının (ya da kan kaybının) diyetten emiliminin arttığı negatif demir dengesidir. Demir açığı redepolama bölgelerinden demirin harekete geçmesiyle kapatılır. Bu dönemde ferritin düzeyinde ya da ilik aspirasyonlarında boyanabilir demirin görünmesi azalacaktır. Serumdaki demir miktarı, toplam demir bağlama kapasitesi (TDBK) ve serbest eritrosit protoporfirin (FEP) düzeyi normal sınırlar içerisinde kalır. Bu sırada eritrosit görünümü ile boyutları normal değerlerdedir. İkinci faz eritropoez aşamasındadır. Tükenen demir depolarıyla birlikte serum demiri miktarı azalmaya başlar, yavaş yavaş TDBK, FEP düzeyi gibi yükselmeye başlar. Serum ferritin düzeyi <15 μ/L'ye ulaştığında ilikteki demir azalmıştır. Transferrin satürasyonu azaldığında, Hb sentezi bozulur [20].

2.1 Demir Eksikliğinin Nedenleri

Demir eksikliği, birçok nedenle ortaya çıkabilen bir durum olup beslenme yetersizliği, demir emiliminde bozukluk, kan kaybı gibi durumlarda görülebilir.

Protein kısıtlı diyet ile iştahsızlık durumlarında ihtiyacımız olan demir karşılanamayabilir, demir emilimini bozan ilaçların kullanımı (fosfat bağlayıcı, PPI, antasit), kan kaybıyla oluşan demir eksikliği tetkik amaçlı alınan kanlar, hemodiyalize bağlı kayıplar (hemoliz, diyalizör ve setlerde kalan kan), kadınlarda menoraji, artmış kanama eğilimi (heparin kullanımı, trombosit disfonksiyonu) gibi durumlar ile oluşabilir ayrıca ESA kullanımından dolayı demir gereksiniminde artış gerçekleşebilir.

2.2 Klinik Bulgular

Demir eksikliğinde, hücrenin içinde ve hücrenin dışında yer alan demir ihtiva eden bileşikler görevlerini yerine getirememekte, bu durumun neticesinde hücre fonksiyonlarında, büyümede ve motor gelişimde, bağışıklık sisteminde, termoregülasyonda önemli değişimler oluşmaktadır [21-23]. Tırnağın bombeliğinin kaybolmasıyla içe çökmesi (koilonişi) demir eksikliğine özgüdür [24].

Hemoglobin seviyesi 3-4g/dL oluncaya kadar anemi iyi tolere edilebilir. Hastaneye başvurulduğunda genellikle farklı sebeple tanı konulur. Şikayet veya muayene bulgusuna rastlanılmayan durumlar orta dereceli anemidir. Kaşık tırnak, mavi sklera gelişebilir. Yorgunluk, halsizlik, solukluk, taşikardi, kulak çınlaması, kalpte üfürüm, bebeklerde huysuzluk, iştahsızlık gibi bulgular derin anemide görülmektedir. Çevreye olan ilgi ve hareket azalır. Demir eksikliği oluşan çocuklar apatik olur ve dikkat süreleri kısadır. Tedavi edilen demir eksikliği ile yoğunlaşma güçlüğü, yorgunluk ve davranışlarda düzelmeler görülmektedir. Karaciğer-dalak boyutu %10-15 olguda olabilir. Genellikle hastalar buz, çamaşır kolası, toprak ve duvar boyası gibi maddeleri tüketme eğilimindedirler. Tüketilen bu ürünler bağırsakta demiri bağlar ve emilimini azaltarak aneminin ilerlemesine sebep olurlar. Toprağın içindeki maddeler demirle beraber çinkoya da bağlanırlar ve bu durum çinko eksikliğine sebep olur. Kronik demir eksikliği anemisinde, dokulardaki fonksiyonel demirin az miktarına bağlı olarak sindirim sistemi semptomları olarak dudak köşelerinde stomatitis, dil papillalarında atrofi ve ağızda ve ince bağırsakta mukozal farklılıklar oluşturabilmektedir. Çocuklarda demir eksikliğinde enfeksiyonlara olan direnç azalır. Dolayısıyla menenjit, pnömoni, gastroenterit görülme ihtimali fazladır [25]. İmmün sistem yanıtının düşmesinin fizyopatolojisi lökosit işlevlerindeki bozukluklarla ilgilidir. Demir eksikliği olan çocuklarda büyüme ve zeka gelişiminde bozukluklar meydana gelir. Diyetle demir takviyesiyle bilişsel gelişim bozukluklarının giderildiğini ya da demir durumu takviye edilse bile bilişsel bozukluklar geri dönüşümsüz olduğuna dair birçok çalışma mevcuttur [26,27].

Demir eksikliği anemisinde tüm anemilere sekonder genel klinik bulgular olabileceği gibi hiçbir klinik bulguya rastlamaksızın sıradan laboratuvar incelemeleri esnasında da tanı konulabilir. Hastaya ait klinik olarak belirtileri ve bulguları demir eksikliği anemisinin artma hızına, hastanın kalp, akciğer ve santral sinir sisteminin fonksiyon göstermesine, hastanın yaşına, anemiye sebep olabilecek altta yatan hastalığa bağımlıdır [28].

2.2.1 Tanı

Normokrom normositer anemisiyle DEA erken dönemde belirlenebilir [29]. Hematokrit değeri düştüğünde eritrositler mikrostik olurken [20], Hb<8 g/dL olduğunda semptomatik hale döner [9]. Anizositoz, DEA'nın erken belirtisi olup değeri %13.4'tür. Demir eksikliğinde ve megaloblatik anemilerde artarken heterozigot talesemide normaldir [30,31]. Periferik yaymada hipokromi, mikrositoz, anizositoz ve poikilositoz bulunur [11]. Azalmış serum demiri yanı sıra TDBK'nın

artmış olması durumunda DEA tanısı koyulur [9]. Demir eksikliğinde ilk ve en doğru teşhis testi serum ferritin ölçümü olup derişimi 25 ng/L'den az olan hastalarda demir eksikliği olma ihtimali yüksektir [32]. Ferritin birçok enfeksiyonda, malignitede, iltihabi hastalıkta bir akut faz reaktanı olarak artmış miktarlarda sentezlenir [9]. Demir eksikliği durumlarında, apoferritinin salınımında yükselir [20,33]. Hem sentezinin bozulduğu durumlarda protoporfirin kırmızı hücrelerde birikir. Kırmızı hücrelerde ise 30 g/dL'nin altında normal değer olarak kabul edilir [9]. Demir eksikliğinin varlığı konusunda kesin bir kanıya varılamadığı takdirde, kemik iliğinde demir depolarına bakılır. Demir eksikliğinin varlığı demir depolarının olmamasıyla doğrulanır [20].

3. TEDAVİ

Demir eksikliği tanısı konulan hastalar için tedavi hastanın klinik durumu ile alakalıdır. Anemiyi tedavi etmek için tercih edilen (hemodinamik bozukluk yoksa) demir preparatlarıyla olan tedavidir. Çocuklarda kan transfüzyonları tek başına demir tedavisi yerine ağır anemiyi tedavi etmek amacıyla nadir durumlarda uygulanır. Demir eksikliği anemisinin yeterli miktardaki demire düzenli cevap vermesi önemli bir tanısal ve tedavi edici özelliktir. Demir eksikliği anemisinde tedavi oral veya parenteral yolla demir preparatlarının verilmesiyle gerçekleşir. Etkililiği, güvenli oluşu, ucuz olması ve parenteral uygulamada sistemik ve lokal reaksiyonlar gibi risklerinin oluşmasından dolayı çoğunlukla oral yolla tedaviye öncelik verilir [7].

3.1 Ağız Yolu ile Tedavi

Oral yol ile tedavide tercih edilen ilk demir preparatları sülfat, glukonat, fumarat gibi ferröz demir tuzlarıdır. Ferrik demir tuzları emiliminin yetersiz ve etkisiz olması nedeniyle tercih edilmemektedir. Elementer demir miktarı tedavide 3-6 mg/kg olacak şekilde 2-3 doza bölünerek yemeklerden 1-1.5 saat önce ya da iki öğün arasında kullanımı önerilmektedir. Bu doz Hb derişiminde 0.4 g/dL/gün artmayı sağlamaktadır. Hb derişimi ne kadar düşükse artış o kadar fazla olur. Demir depolarını güvenli seviyeye ulaştırmak için 3 ay tedaviye devam edilmelidir [7,34]. Oral demir tedavisini vücutta fazla demir birikimine sebep olunmaması için hiç bir zaman 5 aydan daha fazla süreli olmamalıdır [7].

3.2 Parenteral Demir Tedavisi

Oral demir tedavisini tolere edemeyen, total parenteral beslenme, malabsorbsiyon, devamlı ve kontrol edilemeyen bir kanamanın olduğu durumlarda parenteral yolla demir tedavisi kullanılır. Parenteral demir preparatı olarak en sık tercih edilen demir dekstrandır. Parenteral olarak verilecek toplam demir miktarı formülle [(Normal Hb - Hasta Hb / 100) × Kan Hacmi (mL) × 3.4 ×

1.5)] hesaplanarak intravenöz veya intramuskuler olarak uygulaması yapılmaktadır. İntramuskuler uygulama, derine ve ilk olarak 0.5 mL verilerek hipersensitivite değerlendirilmesinden sonra 1 saatin ardından tam dozu uygulanır. Günlük en yüksek doz 100 mg'dır. İntravasküler olarak uygulandığında ise 5 mL demir dekstran 100 mL salin çözeltisinde olacak şekilde sulandırılıp ya da tam doz üçe bölünerek verilebilir. Başlangıç çözeltisi akış hızı ilk 5 dk için 20 mL/dk'dır ve yan etki görülmez ise 40 damlaya kadara arttırılabilir [11]. Parenteral demir uygulanma şekline cevap oral demir uygulanma şekline olan yanıttan daha hızlı değildir. İntramusküler tedavinin yan etkileri; baş ağrısı veya kusma, kas veya eklem ağrısı > ağız tadında değişiklik (örneğin; metal tadı hissetmek), tansiyon ve nabız atışında değişiklik, enjeksiyon yerinde renk değişikliği, seyrek olarak lokal inflamasyon, bulantı ve sersemlik hissidir. Hastaların %0.5-1'inde anaflaktik reaksiyon gelişebilmektedir [7].

4. DEMİR FAZLALIĞI

Organlarda biriken demirin vücut için "güvenli olan depo düzeyini' geçtiğinde, durumun riski maruz kalınan demirin fazlalığına bağlı olup, karaciğer, pankreas ve kalp gibi hedef organlarda dokuların zarar görmesi hayati risk arz etmektedir. Dokularda oluşan demir fazlalığı enfeksiyon, neoplazi, kardiyomiyopati, artropati ve birçok endokrin ve nörolojik bozukluklara sebebiyet verebilir [2,35-41]. Demir fazlalığı vücudumuzda iki nedenden dolayı görülebilir.

4.1 Primer Demir Fazlalığı

Gıdalardan demirin emiliminin artması (kalıtsal hemokromatoziste de olduğu gibi) ya da besinlerle aşırı demir alımı, primer demir fazlalığına sebep olur. Demir homeostazından sorumlu genlerdeki kalıtsal mutasyonlar demir fazlalığını oluşturur. Böylelikle demir metabolizması bozularak intestinal demir emiliminin artmasına sebep olur. Yaygın bir şekilde rastlanılan primer demir fazlalığı, kalıtsal hemokromatozis olarak da isimlendirilmiştir [42-44].

4.2 Sekonder Demir Fazlalığı

Devamlı damardan kan verilen tedavi yöntemleriyle alınan demir alımı, sekonder demir fazlalığına sebep olur [45,46]. Bu durum vücutta biriken demirin düzenlenme sistemi ile ilgili genlerdeki kalıtımsal problemlerin direkt sonucu olmadığı durumu anlatmak için kullanılır. Genelde demir fazlalığına sebep olan bir hastalık ya da duruma bağlı olarak oluşabilir. Bu fazlalık durumu, kronik karaciğer hastalıklarında, hepatit C virüsü infeksiyonu ile harekete geçen aşamalı bir süreç oluşabilir. Demir düzenleyici genlerin ekspresyonunu ile karaciğerin stresle alakalı bu durumu değişebilir. Örneğin, reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini artırılması ile C/EBPα inhibisyonu

yoluyla hepsidinin düzenlenmesini ve demir gen ifadesinin düzenlenmesini değiştirebilir. Ayrıca stres altında karaciğerde ve hepatositlerde zarar oluşabilir. Diğer dokularda ve hepatositlerde demir birikmesiyle demir homeostazının bozulmasına sebep olur. Buna ek olarak büyük oranda kan nakline bağımlı olarak kalıtsal veya kazanılmış anemilerde sekonder demir fazlalığına rastlanabilmektedir [2,47-49].

4.3 Demir Toksisitesi

Ülkemizde zehirlenmelere neden olan maddeler incelendiğinde ilaçlardan sonra sırasıyla tarım ilaçları ve böcek öldürücü kimyasallar (organofosfat ve karbamat grubu insektisitler), evde kullanılan kimyasallar (çamaşır suyu, kireç çözücü, deterjan, naftalin vb.), zehirli gazlar (karbonmonoksit), bitkiler ve besinler (mantarlar, delibal, kayısı çekirdeği vb.) ve zehirli hayvan ısırma ve sokmalarıdır (arı, örümcek, akrep, yılan vb.). Asetaminofen, amiptriptilin, kolşisin, metformin, asetil salisilik asit, digoksin, demir preparatları, vitamin D en sık rastlanan ilaç zehirlenmeleridir [50]. Demir fazlalığıyla oluşan durumlarda, demir toksisitesinden sorumlu olan parankimal labil demir havuzu, demir şelasyonunun esas amaçlarını oluşturur. Demir şelasyonu için kullanılan başlıca ligand desferrioksamin B (Desferrioksamin) doğal bir siderofordur.

SONUÇ

Demir, önemli bir mikronutrienttir ve hemoglobinin yapısında yer alır. Fazlalığında ya da eksikliğinde önemli klinik patolojilere sebep olabilir. Meydana gelen değişiklikler organlarda, hücrelerde ya da moleküler seviyede görülebilir. Birçok metabolik yolakta kofaktör işlevi gören demir önemli bir redoks elementidir. Oksijen taşınmasında, elektron taşınması, protein sentezi, DNA ve RNA sentezi, hücre solunumu, birçok enzimin yapı ve fonksiyonu gibi pek çok işlevi vardır. GİS'den emilen demir miktarı günde 1 mg'dır, eritropoezde kullanılan miktar 20 mg/gün, toplam vücut demiri 3500-4500 mg'dır. Bazı ilaçlarla birlikte kullanımı ile demir emilimi etkilenebilir. İştahsızlık (alım azlığı), emilim bozuklukları, GIS kayıpları (ASA, NSAID), sık kan testleri, EPO tedavisi (demir döngüsü artışı), enfeksiyon/enflamasyon, transferrin düşüklüğü gibi nedenlerden dolayı demir eksikliği oluşmaktadır. Demir eksikliği tanısında, serum demir düzeyi, serum ferritin düzeyi, serum transferrin satürasyonu, retikulosit Hb içeriği, hipokromik eritrosit yüzdesi, çözünebilir transferrin reseptörü, hepsidin, kemik iliği ve karaciğer biyopsisi kullanılmaktadır. Anemik olan kişilerde kanda hemoglobin seviyesi azalır ve kırmızı kan hücrelerinin sayısı düşer. Demiri beslenmeyle yetersiz alan okul çağındaki çocukların sık hastalandıkları ve okula devam edemedikleri, öğrenme, algılama ve dikkatlerinin azaldığı ve okul başarılarının azaldığı bilinmektedir. Demir fazlalığında enfeksiyon, tümör oluşumu, kardiyomiyopati, artropati ve birçok nörolojik ve endokrin bozukluklara sebebiyet verebilir.

Demirin yeteri kadar vücuda alınamaması veya emiliminin olumsuz olarak etkilendiği durumlarda kullanılan demir preparatları farklı yollarla uygulanabilmektedir. Vücuttaki demir miktarına bağlı olarak oral yoldan alınımı veya parenteral demir tedavisi başlanabilmektedir. Demir emilinin oral yolla alındığında yetersiz olduğu, demir eksikliğinin oral yolla tedavisiyle aneminin düzelmediği hastalarda veya oral demir tedavisini tolere edemeyen hastalarda parenteral demir tedavisi tercih edilir. Ayrıca demir şelasyon tedavisi de yapılmaktadır. Bu tedavideki amaç, toksik etkinin oluşmadığı demir yükünü güvenli düzeylerde devam ettirmektir. Ayrıca güvenli seviyeye ulaşıncaya kadar fazla demir miktarını detoksifiye ederek organizmayı demir toksisitesinden korumaktır. Demir fazlalığıyla oluşan durumlarda ise, demir toksisitesinden sorumlu olan parankimal labil demir havuzu, retikuloendotelial sistemde eritrosit katabolizmasından salınan demir, demir şelasyonunun esas amaçlarını oluşturur. Demir şelasyonu için kullanılan başlıca ligand desferrioksamin B doğal bir siderofordur.

KAYNAKÇA

[1] Flora SJ, Pachauri V. Chelation in metal intoxication. International Journal of Environmental Research and Public Health. 2010; 7(7): 2745-2788.

[2] Özbolat G, Abdullah T. Demir fazlalığı için şelasyon tedavisi ve şelasyon ligandları. Arşiv Kaynak Tarama Dergisi. (2010); 28(1): 66-81.

[3] Kalinowski DS, Richardson DR. The evolution of iron chelators for the treatment of iron overload disease and cancer. Pharmacological Reviews. 2005; 57(4): 547-583.

[4] Dinlen N, Çayır A, Fettah A, Şaylı TR. Demir eksikliği anemisi tedavisinde iki ve üç değerlikli demirin etkinliği ve multivitamin desteğinin tedaviler üzerine etkisi. Çocuk Dergisi. (2012); 12(2): 72-77.

[5] Tunç B. Çocuklarda demir eksikliği anemisi. Türkiye Çocuk Hastalıkları Dergisi. (2008); 2 (2): 43-57.

[6] Yağcı-Küpeli B, İlhan-Yalaki A. Çocukluk çağı kanserlerinde tedaviye bağlı demir yükü. Arşiv Kaynak Tarama Dergisi. (2018); 27(2): 223-240.

[7] Kaçmaz E. Demir eksikliği anemisinin plazma tiroid hormonlari üzerine etkisi. Uzmanlık Tezi, TC Sağlık Bakanlığı Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 2009.

[8] Puig S, Ramos-Alonso L, Romero AM, Martínez-Pastor MT. The elemental role of iron in DNA synthesis and repair. Metallomics. (2017); 9(11): 1483-1500.

[9] Gülertan S. Demir Eksikliği anemisi olan kadın hastalarda oral demir tedavisinin etkinliğinin değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi, TC Sağlık Bakanlığı Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 2008.

[10] Frewin R, Henson A, Provan D. ABC of clinical haematology: iron deficiency anaemia. BMJ. (1997); 314(7077): 360.

[11] Anemi, B.U.D.E., Klinik hematolojinin ABC'si. Anemiler Sempozyumu Özet Kitabı, 2001, 23-32.

[12] Hepsidin UZ. Demir metabolizması. Türk Hematoloji Derneği Kurs Notları. (2007); 1, 16.

[13] Dallman PR, Yip R. Changing characteristics of childhood anemia. The Journal of pediatrics. (1989); 114(1): 161-164.

[14] Bülbül SH. Çocuk beslenmesinde demirin yeri ve önemi. Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi, (2004); 13(12): 446-450.

[15] Türk Hematoloji Derneği. Çocuklarda Demir Eksikliği Anemisi Tanı ve Tedavi Kılavuzu II. 2011.

[16] Guyton A, Hall J. Dolaşım sistemi; basınç, akım ve direncin tıbbi fizik prensipleri; alyuvarlar, anemi ve polisitemi. Nobel Tıp Kitabevleri,1996; 160-170.

[17] Lopez A, Cacoub P, Macdougall IC, Peyrin-Biroulet L. Iron deficiency anaemia. The Lancet, (2016); 387(10021): 907-916.

[18] Özdemir N. Çocuklarda tanıdan tedaviye demir eksikliği anemisi. Türk Pediatri Arşivi, (2015); 50(1): 11-19.

[19] Yasavul Ü, Çelik İ, Arıcı M. Hacettepe Üniversitesi-Hacettepe iç hastalıkları kitabı. 2004.

[20] Duffy TP. Mikrositik ve hipokromik anemiler. Cecil textbook of medicine, (çev. ed.) Ünal S, 2006: 1, 1003-8.

[21] Halterman JS, Kaczorowski JM, Aligne CA, Auinger P, Szilagyi PG. Iron deficiency and cognitive achievement among school-aged children and adolescents in the United States. Pediatrics. (2001); 107(6): 1381-1386.

[22] Haas JD, Brownlie T. Iron deficiency and reduced work capacity: a critical review of the research to determine a causal relationship. The Journal of nutrition, (2001); 131(2): 676-690.

[23] Ertuğrul T, Tanman B. Solunum sistemi infeksiyonları. Pediatri. Nobel Tıp Kitabevleri, 2002: 870-916.

[24] Gümrük F, Altay Ç. Demir metabolizması ve demir eksikliği anemisi. Katkı Pediatri Dergisi, (1995); 3: 265-285.

[25] Yıldız İ. Demir eksikliği anemisi. Turkish Pediatrics Archive/Turk Pediatri Arşivi (2009); 1: 44.

[26] Deinard AS, List A, Lindgren B, Hunt JV, Chang PN. Cognitive deficits in iron-deficient and iron-deficient anemic children. The Journal of pediatrics, (1986); 108(5): 681-689.

[27] Lozoff B, Jimenez E, Wolf AW. Long-term developmental outcome of infants with iron deficiency. New England journal of medicine, (1991); 325(10): 687-694.

[28] Türkaslan FF, Ataoğlu UDHE. Araştırma Hastanesi Dahiliye Kliniklerinde Yatan Diabetik Hastalarda Anemi, 2010.

[29] Atalay E, Karaağaç Ö, Tur K, Şişman P. Demir eksikliği anemisi olan premenapozal kadınlarda serum HbA1c düzeylerinin değerlendirilmesi. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 45(2); 179-184.

[30] Ceylan A, Erbil MK, Kutluay T. Anemi sınıflandırılmasında eritrosit dağılım genişliği (RDW) ve ortalama eritrosit hacmi (MCV). Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences, (1990); 10(3): 198-201.

[31] Keskin A, Polat A, Türk T, Sermez Y. Erken demir eksikliğinin teşhisinde eritrosit dağılım genişliği (RDW)'nin değeri. Haseki Tıp Bülteni, 2000; 38(2): 119-121.

[32] Control C.f.D. Iron deficiency. Morbidity and mortality weekly report, (2002); 51(40): 897.

[33] Cook J. Newer aspects of the diagnosis and treatment of iron deficiency. American Society of Hematology Educational Program Book, (2003); 40-61.

[34] Stockman J., Anemia of iron deficiency. Current pediatric therapy, 14th edn. WB Saunders, Philadelphia, 1993: 238-240.

[35] Hershko C, Konijn AM, Link G. Iron chelators for thalassaemia. British Journal of Haematology, (1998); 101(3): 399-406.

[36] Beutler E. Hemochromatosis: genetics and pathophysiology. Annu. Rev. Med., (2006); 57: 331-347.

[37] Weinberg ED. Iron loading and disease surveillance. Emerging infectious diseases, (1999); 5(3): 346.

[38] Gattermann N, Rachmilewitz EA. Iron overload in MDS-pathophysiology, diagnosis, and complications. Annals of hematology, (2011); 90(1): 1-10.

[39] Cabantchik ZI, Breuer W, Zanninelli G, Cianciulli P. LPI-labile plasma iron in iron overload. Best practice & research Clinical haematology, (2005); 18(2): 277-287.

[40] Brittenham GM. Iron-chelating therapy for transfusional iron overload. New England Journal of Medicine, (2011); 364(2): 146-156.

[41] Musallam KM, Cappellini MD, Wood JC, Motta I, Graziadei G, Tamim H et al. Elevated liver iron concentration is a marker of increased morbidity in patients with β thalassemia intermedia. Haematologica, (2011); 96(11): 1605-1612.

[42] Bonkovsky HL, Lambrecht RW, Shan Y. Iron as a co-morbid factor in nonhemochromatotic liver disease. Alcohol, (2003); 30(2): 137-144.

[43] Pietrangelo A. Hereditary hemochromatosis - a new look at an old disease. New England Journal of Medicine, (2004); 350(23): 2383-2397.

[44] Siddique A, Kowdley K. The iron overload syndromes. Alimentary pharmacology & therapeutics, (2012); 35(8): 876-893.

[45] Yen AW, Fancher TL, Bowlus CL. Revisiting hereditary hemochromatosis: current concepts and progress. The American journal of medicine, (2006); 119(5): 391-399.

[46] Kohgo Y, Ikuta K, Ohtake T, Torimoto Y, Kato J. Body iron metabolism and pathophysiology of iron overload. International journal of hematology, (2008); 88(1): 7-15.

[47] Heli H, Mirtorabi A, Karimian K. Advances in iron chelation: an update. Expert opinion on therapeutic patents, (2011); 21(6): 819-856.

[48] Brissot P, Ropert M, Lan CL, Loréal O. Non-transferrin bound iron: a key role in iron overload and iron toxicity. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects, (2012); 1820(3): 403-410.

[49] D. Bisceglie, A.M., et al., Measurements of iron status in patients with chronic hepatitis. Gastroenterology, (1992); 102(6): 2108-2113.

[50] Çetinkaya S. Akut zehirlenmeler ve tedavi prensipleri, Türk Farmakope Dergisi (2018); 3(1): 85-93.