



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

BEŞERİ AŞILARIN KLİNİK DIŞI DEĞERLENDİRİLMESİNE İLİŞKİN KILAVUZ

KAD-KLVZ-21

İlk Versiyon Yürürlük Tarihi	06.10.2020
1. Revizyon Yürürlük Tarihi	18.05.2021
2. Revizyon Yürürlük Tarihi	22.03.2024

İçindekiler

1. GİRİŞ	3
2. AŞI ADAYININ ÜRETİMİ, KARAKTERİZASYONU VE KALİTESİ	3
2.1. AŞI ÜRETİMİ	3
2.2. KARAKTERİZASYON	4
2.3. POTENS.....	4
2.4. STABİLİTE	5
3. TOKSİKOLOJİ ÇALIŞMALARI	5
3.1. TEK DOZ TOKSİSİTE ÇALIŞMALARI.....	7
3.2. TEKRARLI DOZ TOKSİSİTE ÇALIŞMALARI	7
3.3. LOKAL TOLERANS.....	9
3.4. ÖZEL İMMÜNOLOJİK ARAŞTIRMALAR VE TOKSİSİTE DEĞERLENDİRMESİ	9
3.5. ÜREME VE GELİŞİMSEL TOKSİSİTE ÇALIŞMALARI	9
3.6. GENOTOKSİSİTE VE KARSİNOJENİSİTE ÇALIŞMALARI.....	10
4. PRİMER FARMAKODİNAMİK ÇALIŞMALAR	10
4.1. İMMÜNOJENİSİTE ÇALIŞMALARI.....	10
4.2. KORUYUCU ETKİLİLİK (CHALLENGE) ÇALIŞMALARI	11
5. SEKONDER FARMAKODİNAMİK ÇALIŞMALAR (GÜVENLİLİK FARMAKOLOJİSİ)	11
6. FARMAKOKİNETİK ÇALIŞMALAR	12
7. ÖZEL DURUMLAR	12
7.1. ADJUVANLAR	12
7.2. KATKI MADDELERİ (YARDIMCI MADDELER VE KORUYUCULAR).....	12
7.3. AŞI FORMÜLASYONU VE UYGULAMA CİHAZI.....	12
7.4. ALTERNATİF UYGULAMA YOLLARI.....	13
8. AŞI TÜRLERİNE YÖNELİK GEREKLİLİKLER	14
9. YÜRÜRLÜK	14
10. YÜRÜTME	14
11. REFERANSLAR	14
EK-1	16

Doküman No	İlk Yayın Tarihi	Revizyon Tarihi	Revizyon No	Sayfa
KAD-KLVZ-21	06.10.2020	22.03.2024	02	2 / 17

1. GİRİŞ

Aşı adaylarının klinik gelişimi, klinik dışı çalışmalar ve klinik araştırmalardan oluşur. Bir aşı adayı için gerekli klinik dışı değerlendirmenin yapılması ve uygun sonuçların elde edilmesi, klinik araştırmaların başlatılabilmesi için bir ön koşuldur. Bununla birlikte aşı adayının klinik dışı değerlendirmesi, aşı gelişiminin hem klinik araştırma öncesi hem de klinik araştırma aşamasında devam etmekte olup gerekli durumlarda klinik araştırmalar devam ederken de ek klinik dışı çalışmalar planlanmalıdır. Bu kılavuz, klinik araştırmaların öncesinde ve klinik araştırmalar sırasında yapılacak olan "klinik dışı değerlendirilmeye" ilişkin genel ilkelere rehberlik sunmak üzere hazırlanmıştır. Klinik dışı değerlendirme, aşuların klinik gelişimi öncesinde ve esnasında yapılan tüm "In vivo" ve "In vitro" testleri ifade eder. Bu kılavuz kapsamında belirtilen gereklilikler yürütülecek klinik araştırmalar için geçerli olup tüm ruhsatlandırma gerekliliklerini kapsamamaktadır.

Yeni bir aşı adayının klinik dışı çalışmalarının birincil amacı, aşı adayının insanlar üzerinde araştırılabilmesi için uygun ve güvenli olduğunu göstermek olmalıdır. Bu çalışmalar, uygun hayvan modelleri ile gösterilen güvenilirlik ve immünojenisite verileri de dâhil olmak üzere aşı adayının özelliklerini (fiziksel, kimyasal ve biyolojik) tanımlamak üzere tasarlanır. Elde edilecek veriler, aşı adayının güvenliliği ve etkililiğinin değerlendirileceği klinik araştırma protokollerinin planlanmasına da yol gösterir. Gerekli durumlarda; klinik dışı çalışmalar yapılırken biyogüvenlik koşulları sağlanmalı ve toksisite çalışmaları İyi Laboratuvar Uygulamalarına (İLU) (*Good Laboratory Practice - GLP*)¹ uygun yapılmalıdır.

İlgili aşı adayı için yapılacak olan klinik dışı çalışmaların kapsamı aşının türüne bağlıdır. Önceden elde edilmiş klinik dışı ve klinik verisi olmayan bir ürün için yapılacak klinik dışı çalışmaların, daha önce ruhsatlandırılmış ve insanlarda kullanılan ürünler için yapılacak klinik dışı çalışmalardan daha kapsamlı olması beklenir.

Deney hayvanları ile yürütülecek çalışmalarının 3R (*reduce, refine, replace*) ilkeleri göz önünde bulundurularak planlanması beklenmektedir.

Yapılacak olan klinik dışı çalışmalarda, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) (*World Health Organization – WHO*)², Uluslararası Uyum Konseyi (*The International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use - ICH*)³ ile Avrupa Birliği⁴ ilgili kılavuzları, rehber dokümanları ve Farmakopeler referans alınabilir.

2. AŞI ADAYININ ÜRETİMİ, KARAKTERİZASYONU VE KALİTESİ

2.1. Aşı Üretimi

Aşıların kalitesi, güvenliliği ve etkililiği genellikle üretim koşullarındaki değişikliklere duyarlıdır. Birçok aşı prokaryotik veya ökaryotik mikroorganizmalar kullanılarak üretilir ve bu organizmalardaki küçük değişiklikler aşı ürününü önemli ölçüde etkileyebilir. Aşı preparatlarının kalitesi ve güvenliliği sadece nihai ürünün test edilmesiyle sağlanamaz, kalite ve güvenilirlik ancak İyi İmalat Uygulamaları (İİU) (*Good Manufacturing Practice – GMP*)⁵ ilkelerini izleyerek, üretim sürecinin sıkı kontrolüne bağlıdır. Bu süreçler başlangıç malzemesinin (hammaddeler ve tohumlar) saflığının ve kalitesinin gösterilmesini, proses içi kontrol testlerini, proses katkı maddelerinin ve proses ara maddelerinin testlerini ve seri serbest bırakma testlerinin geliştirilmesini ve oluşturulmasını kapsar. Ayrıca, bu ürünlerin fiziksel ve kimyasal özellikleri ile immünojenisitesi ve etkililiği

¹ Tesisin iyi laboratuvar uygulamalarına uygunluğu, yetkili otorite tarafından sertifikalandırılmış olmalıdır.

² who.int/biologicals/vaccines/en/

³ ich.org/page/ich-guidelines

⁴ ema.europa.eu/en/human-regulatory/research-development/scientific-guidelines

⁵ Tesisin iyi imalat uygulamalarına uygunluğu, yetkili otorite tarafından sertifikalandırılmış olmalıdır.

Doküman No	İlk Yayın Tarihi	Revizyon Tarihi	Revizyon No	Sayfa
KAD-KLVZ-21	06.10.2020	22.03.2024	02	3 / 17

arasındaki ilişki genellikle tam olarak anlaşılmadığından, biyolojik analizler kullanılarak yapılan biyolojik karakterizasyon her zaman fiziksel ve kimyasal ürün karakterizasyonunu tamamlamalıdır.

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

Klinik dışı çalışmalarda kullanılan aşı serileri, klinik araştırmada kullanılması amaçlanan formülasyonu yeterince temsil etmelidir ve ideal olarak klinik araştırmalarda kullanılması amaçlanan aşı serileri ile klinik dışı testlerde kullanılan aşı serileri aynı olmalıdır. Eğer bu mümkün değilse, klinik dışı çalışmalarda ve klinik araştırmalarda kullanılan seriler, fiziko-kimyasal veriler ve formülasyon açısından karşılaştırılabilir olmalı ve bu durum belgelendirilmelidir.

2.2. Karakterizasyon

Aşı üretiminde canlı veya inaktif bakteriyel ya da viral vektörler kullanılmışsa ana ve çalışma tohum serisi oluşturulmalı ve genetik stabilite, tohum serilerinin üretiminde kullanılan maddelerin analizi ve tohum serilerinin kalite kontrol testleri (saflık, tanıma testleri, üreme özellikleri, biyokimyasal özellikleri) yapılmalıdır. Eğer üretimde plazmid DNA kullanılmışsa (peptid/rekombinant protein aşılı ve DNA aşılı gibi) kullanılan plazmidin haritası ve tüm nükleotid dizisi verilmeli ve kullanılan plazmit ile birlikte ilgili antijeni kodlayan genin nükleotid dizisinin doğruluğu kanıtlanmalıdır. Aynı şekilde, protein ve peptid aşılılarında aminoasit dizilerinin, mRNA aşılılarında ise RNA dizilerinin doğruluğu belgelenmelidir.

Üretimde kullanılan hücre hattı, besiyeri, hammadde ve yardımcı maddelere ait analiz sertifikaları, insan ve hayvan kaynaklı materyal kullanılıp kullanılmadığı belgelendirilmelidir.

Üretimde kullanılan antijenlere ait kimlik tayini testleri, antijen içeriği, immünojenite ve potens testleri yapılmalıdır.

Hazırlanacak aşı formülasyonunun bileşimi verilerek, antijenden başlayarak nihai aşının üretimine kadar tüm aşamalar için farmasötik gelişimin ayrıntıları belgelendirilmelidir.

Etkin madde ve bitmiş ürün analizleri için spesifikasyonlar tanımlanarak seri analiz testleri (pH, osmolarite, ekstrakte edilebilir hacim, toplam protein miktarı, adjuvan içeriği, potens, bağlanma testleri [antijen-adjuvan adsorbsiyonuna dair testler], sterilite, endotoksin/pirojenite testleri gibi) yapılmalı, proses ve ürünle ilgili safsızlıklar tanımlanarak, safsızlık analizleri yapılmalıdır.

Kullanılan referans standartlar hakkında bilgi verilerek analiz sertifikaları belgelendirilmelidir. Üretimde adjuvan ya da koruyucu kullanılması durumunda da farmakope ya da ilgili rehberler doğrultusunda karakterizasyon çalışmaları yapılmalıdır.

Kalite kontrol testleri planlanırken farmakope monografaları, ilgili ulusal/uluslararası rehberler (ICH, EMA, FDA, WHO vb.) kullanılmalıdır. Aşı adayı ve kullanılan metotlar ile ilgili bu rehberlerde bilgi bulunmaması durumunda ise firma içi (*in house*) spesifikasyonlar ve bunlara ait limit değerler belirlenmelidir.

Karakterizasyon çalışmaları aşı türüne ve içeriğindeki antijenik materyale göre değişebileceğinden yukarıdaki genel bilgiler rehberliğinde geliştirilecek aşı özelinde ilgili ulusal ve uluslararası rehberlerin dikkate alınması gerekmektedir.

2.3. Potens

Potens testleri, bir aşının biyolojik aktivitesini ölçer ancak aşının insanlardaki koruma mekanizmasını yansıtmayabilir. Potens ölçümü genellikle üretim sürecinin tutarlılığını doğrulamak için kullanılır. Aşılar için potens testi, aşının biyolojik aktivitesinin, biyoaktivitesi bilinen referans bir preparatla karşılaştırılarak ortaya konulmasıdır. Kabul görmüş bir referans preparat olmaması durumunda firma içi standart referans

Doküman No	İlk Yayın Tarihi	Revizyon Tarihi	Revizyon No	Sayfa
KAD-KLVZ-21	06.10.2020	22.03.2024	02	4 / 17

kullanılabilir. Potens genellikle serolojik olmak üzere immün yanıtın ölçülmesine dayanır. Uygun hayvan modellerinin bulunması durumunda koruyucu etkililik (*challenge*) çalışmaları da potens ölçümünde kullanılır.

Potens testleri (antijen içeriği, protein miktarı, hayvanlarda immünopotens, canlı aşılarda virus/bakteri/protozoa miktarı testleri gibi) aşı adaylarının türüne uygun olarak yapılmalıdır.

2.4. Stabilite

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

Stabilite göstergesi parametreler, kullanılan antijen ve diğer bileşenlerin özelliği ve ayrıca üretim sürecine bağlı olarak durum bazında belirlenmelidir.

Birçok aşı, tek başına fizikokimyasal yöntemlerle karakterize edilemeyen spesifik biyolojik aktiviteye sahiptir. Bu nedenle de biyolojik analizler aşılarda kalite kontrolünde önemli rol oynar.

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

Stabilite testlerinin uzun dönem (ürünün saklanma koşullarında), hızlandırılmış ve stres (aşı adayı için gerekli olması durumunda) koşullarında İyi İmalat Uygulamaları (İİU) (GMP) koşullarında üretilmiş ürünle yapılması gerekmektedir. Ürünün klinik araştırma süresince stabilitesini desteklemek için yeterli veri (veri sunum takvimini de içerecek şekilde stabilite protokolü ve mevcut stabilite verileri) sunulmalıdır. Stabilite verileri protokoldeki takvime uygun şekilde tamamlandıktan sonra sunulmaya devam edilmelidir.

[Acil halk sağlığı durumunda, klinik araştırmalara başlamak için 15 günden az olmamak üzere yapılmış stabilite verisi kabul edilebilir. Ancak klinik araştırma yürütülürken ürünün saklama koşullarında ve hızlandırılmış koşullarda gerçekleştirilen stabilite testleri yapılmaya ve elde edilen veriler sunulmaya devam edilmelidir.](#)

Bu çalışmaların yapılmasında temel olarak "*ICH Q5C: Quality of biotechnological products: Stability testing of biotechnological/biological products*" ve "*WHO: Guidelines on stability evaluation of vaccines*" kılavuzu referans alınabilir.

3. TOKSİKOLOJİ ÇALIŞMALARI

Bu bölüm, bir aşı adayı için klinik dışı toksisite çalışması tasarlamaya yönelik genel bir çerçeve sunmaktadır. Bu bölümde belirtilen ve klinik dışı toksisite çalışmalarında değerlendirilen parametreler, klinik araştırmalara başlamadan önce yapılacak güvenilirlik değerlendirmesi için gerekli minimum parametreler olarak kabul edilir. Herhangi bir toksisite çalışmasının tasarımı ürüne ve endikasyona özgü olduğundan, ürünlerin özelliklerine, hayvan modellerinin bulunabilirliğine ve metodolojilere göre bu bölümde belirtilen genel çerçevede değişiklikler gerekli olabilir.

Mevcut geçerli bilimsel veriler; araştırma ürünleri ile yürütülecek klinik öncesi çalışmaların türlerine, kapsamına ve tasarımına dayanak oluşturmalıdır. Yapılacak çalışmalardan elde edilecek verilerin yorumlanmasında da benzer şekilde bilimsel yaklaşım uygulanmalıdır.

Örneğin, bir hayvan modelinde aşırı duyarlılık reaksiyonlarının gözlemlenmesi mutlak suretle klinik araştırmalara devam edilmesine engel teşkil etmeyebilir ancak belirli bir klinik parametrenin de dikkatle izlenmesi gerektiğini gösterir.

Doküman No	İlk Yayın Tarihi	Revizyon Tarihi	Revizyon No	Sayfa
KAD-KLVZ-21	06.10.2020	22.03.2024	02	5 / 17

Toksisite çalışmaları, ilgili aşı adayı ile klinik araştırmaya devam etmenin makul derecede güvenli olduğu sonucuna varılmasını sağlamak için aşı adayının potansiyel toksik etkilerini tanımlamak ve karakterize etmek için yeterli olmalıdır.

Hayvan toksikoloji çalışmalarının tasarlanmasında dikkate alınacak temel parametreler; ilgili hayvan türleri ve soyu, doz şeması, uygulama yöntemi ve sonlanım noktaları ile (örn. klinik kimya, antikor değerlendirmesi ve nekropsi numuneleri) bunların değerlendirilme zamanıdır.

Bu çalışmalarda uygulama yolu, klinik araştırmalarda kullanılması amaçlanan uygulama yoluna karşılık gelmelidir.

Aşı adayı, belirli bir cihaz kullanılarak klinik araştırmalarda uygulanacaksa, hayvan çalışmasında da aynı cihazın kullanılması beklenir.

Aşı adayının potansiyel toksik etkileri, hedef organlar, doz, maruziyet yolları, maruz kalma süresi ve sıklığı ile geri dönüşümlü olma durumu açısından değerlendirilmelidir.

Toksisite çalışmalarında kullanılan hayvanlara ilişkin kaydedilecek veriler; kaynak, tür ve hayvancılık uygulamaları hakkında bilgi içermelidir (örn. hayvanların barınma, beslenme, muamele ve bakımı). Genel olarak, farklı soydan üretilmiş hayvanların (*outbred hayvanların*) kullanılması tavsiye edilir. Hayvanların çalışmayı engelleyebilecek herhangi bir durumdan arınmış olmasını sağlamak adına hayvanların sağlığı geçerli veterinerlik tıbbi uygulamalarına göre değerlendirilmelidir. Örneğin, çapraz enfeksiyon riskini en aza indirmek için laboratuvar hayvanlarının ayrı ayrı barındırılması gerekebilir.

Deney grubunun büyüklüğü seçilen hayvan modeline bağlıdır. İnsanda ilk klinik araştırmayı (*first-in-human trials*) başlatabilmek için, deneyde çalışılan hayvan sayısının (cinsiyet, grup ve zaman aralığı bazında), elde edilecek verilerin istatistik analizinin yapılmasına ve bilimsel olarak anlamlı bir şekilde yorumlanmasına yetecek sayıda olması gerekmektedir. Primatların kullanıldığı çalışmalarda kullanılan hayvan sayısının, kemirgen kullanılan çalışmalardan daha az olması beklenir. Küçük hayvan modelleri için, örneğin sıçanlar ve fareler için grup başına yaklaşık 10 erkek ve 10 dişinin incelenmesi önerilir. Genel olarak, kemirgenler için araştırmanın başlangıcındaki yaklaşık yaş 6-8 hafta, tavşanlar için ise 3-4 aydır.

Ürünün farmakodinamiğinde türe ya da soya özgü farklılıklar gözleendiğinde, birden fazla toksisite çalışması ve/veya birden fazla hayvan türünde ürünün klinik olmayan güvenlilik profilinin ele alınması gerekebilir.

Toksisite değerlendirmesi, bunun için tasarlanmış bağımsız toksisite çalışmalarında veya toksisite sonlanım noktalarına sahip uygun tasarımı etkililik çalışmaları ile kombine halde yapılabilir.

Temel toksisite çalışmasında anormallikler gözlenirse, toksik etkiyi ve bu etkinin mekanizmasını değerlendirmek üzere ilave klinik dışı testlerin yapılması gerekebilir.

Klinik dışı toksisite çalışmaları, İyi Laboratuvar Uygulamaları (İLU) (GLP) şartlarında yapılmalıdır.

Bu çalışmaların yapılmasında temel olarak "ICH M3(R2): Guideline on Non-Clinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorisation for Pharmaceuticals" ve "ICH S6(R1): Preclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals" kılavuzu referans alınabilir.

[Acil halk sağlığı durumlarında ve tekrarlı doz toksisite çalışması yapılması halinde tek doz toksisite çalışması yapılmayabilir.](#)

[Tekrarlı doz toksisite çalışmalarının yapıldığı durumlarda, bu çalışmalar İLU \(GLP\) koşullarında yapılacağından tek doz toksisite çalışmalarının İLU \(GLP\) koşullarında yapılması şartı aranmaz.](#)

Doküman No	İlk Yayın Tarihi	Revizyon Tarihi	Revizyon No	Sayfa
KAD-KLVZ-21	06.10.2020	22.03.2024	02	6 / 17

Acil halk sağlığı durumlarında tekrarlı doz toksisite çalışmalarının ara analiz sonuçları veya onaylanmamış sonuçları ile insanlar üzerindeki ilk araştırma aşamasına geçilebilir. Bu durumlarda tek bir hayvan türü ile yapılan çalışma sonuçlarının sunulması yeterlidir.

Acil halk sağlığı durumlarında, insanlar üzerindeki ilk araştırmalara geçmek için, aşı adayının gelişiminde daha önce bilinen, iyi karakterize edilmiş ve onaylanmış platformların kullanılması durumunda ilgili platforma ilişkin toksisite verileri sunulabilir. Bu verilerin ilgili aşı adayı için geçerliliği gerekçesi ile birlikte detaylı şekilde açıklanmalıdır. Ancak faz 2 araştırmalar öncesinde geliştirilmekte olan aşı adayı ile toksisite çalışmaları yürütülmeli ve tamamlanmalıdır.

Acil halk sağlığı durumlarında, insanlar üzerindeki ilk araştırmalar devam ederken eř zamanlı olarak eksik olan toksisite çalışmaları yürütülmeli ve tamamlandığında elde edilen sonuçlar derhal belgelendirilmelidir. Her durumda, daha fazla sayıda gönüllü içeren faz 2 ve faz 3 araştırmalar öncesinde aşı adayı için eksik olan toksisite testleri tamamlanmalıdır.

3.1. Tek doz toksisite alışmaları

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

Bununla birlikte, akut toksisite verisi herhangi bir çalışmadan elde edildiğinde, tek doz toksisite çalışmalarının ayrıca yapılmasına gerek bulunmamaktadır. Aşılamanın akut etkileri tercihen tekrarlı doz toksisite çalışmalarında araştırılmalıdır (rn. ilk uygulama sonrası değerlendirme yapılıır).

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

Hayvanların vücut ağrılıkları, su ve yem tüketimleri ölçülmelidir.

Test sonrası yaşayan bütün hayvanlarda nekropsi ile fiziksel incelemeler yapılmalı, organların ağrılıkları kayıt altına alınmalı ve gerekli organ ve dokularda histopatolojik incelemeler yapılmalıdır.

3.2. Tekrarlı doz toksisite alışmaları

İlgili bir hayvan türünde yapılacak toksisite çalışmaları klinik araştırmaların başlatılmasını desteklemek adına yeterli olabilir. Bununla birlikte, ürünü tanımlamak için iki veya daha fazla türde çalışmaların yapılmasının gerekli olduğu durumlar mevcuttur (rneğin aşı tarafından indüklenen koruma mekanizmasının iyi anlaşılmadığı durumlarda).

Tekrarlı doz toksisite çalışmaları, en az birisi kemirgen olmayan iki memeli türünde geerleştirilmelidir. Seçilen hayvan türlerinin seçilme sebebi gerekçelendirilmelidir.

Doz, uygulama yolu ve kontrol grupları

Toksisite alışması, hayvanın aşı adayına maruziyetini en st düzeye çıkaran ve bağışıklık tepkisini indükleyen bir doz ile yapılmalıdır (rn. en yüksek antikor yanıtı). Genel olarak, temel toksisite değerlendirmesinin bir parçası olarak doz-yanıtının değerlendirilmesi ve letal dozun belirlenmesi gerekli değildir. Bununla birlikte, hangi dozun hayvan modelinde en yüksek antikor üretimini indüklediğini belirlemek için pilot doz-yanıt çalışmaları yapılabilir.

Doküman No	İlk Yayın Tarihi	Revizyon Tarihi	Revizyon No	Sayfa
KAD-KLVZ-21	06.10.2020	22.03.2024	02	7 / 17

Bu çalışmalarda, klinik araştırmada kullanılması önerilen en yüksek doz değerlendirilmelidir. Bununla birlikte, bazen dozun tek bir enjeksiyonda hayvana uygulanabilecek toplam hacmi sınırlıdır ve hayvan refahı ile ilgili kurallara uyulmalıdır. Bu gibi durumlarda, toplam hacim aynı uygulama yolu kullanılarak birden fazla bölgeye uygulanabilir. Alternatif olarak, insan dozunu mg/kg bazında aşan ve hayvan modelinde bir bağışıklık tepkisini indükleyen bir doz da kullanılabilir. Bu gibi durumlarda, insan ve hayvan dozu arasındaki faktör gerekçelendirilmelidir.

Deney hayvanlarına uygulanacak doz sayısı, insanlarda önerilen doz sayısına eşit veya daha fazla olmalıdır. Bu çalışmalarda, yürütülecek klinik araştırmalara ek bir dozun dahil edilmesine olanak tanıyabilmek için klinik araştırmalarda uygulanması planlanan doz sayısından daha fazla doz sayısı içerecek şekilde tasarlanabilir. Önerilen klinik kullanımı daha iyi yansıtmak için aşı dozları günlük dozlar yerine belirli zaman aralıklarında verilmelidir; toksisite çalışmasında kullanılan doz aralığı, klinik araştırmalarda önerilen aralıktan daha kısa (örn. 2-3 hafta arası) olabilir. Klinik dışı çalışmalarda doz aralığı, hayvan modelinde gözlenen birincil ve ikincil antikor cevaplarının kinetiğine dayanabilir. Aşı ile indüklenen antikorların canlı bir viral vektörü nötralize etmesinin, dolayısıyla ilgili genin ekspresyonunun sınırlanmasının (örn. anti-adenovirüs bağışıklık tepkisi) beklendiği veya hayvanlarda indüklenen bağışıklık tepkilerinin aşı formülasyonunda bulunan türe özgü proteinlerle reaksiyona girmesinin beklendiği (örn. adjuvan olarak kullanılan insan rekombinant sitokinleri) durumlarda tek dozlu bir çalışma yapılabilir.

Uygulama yolu, klinik araştırmada kullanılması amaçlanan uygulama yoluna karşılık gelmelidir. Güvenlilik çalışmasında belirli bir uygulama yolu (örn. intranazal) ile uygulama yapıldığında toksik etkilerin gözlenmesi durumunda, farklı bir uygulama yolu (örn. intravenöz) ile yapılacak ek toksisite çalışmaları, ürünün tüm toksisite spektrumunun anlaşılmasına yardımcı olabilir.

Çalışma tasarımı, negatif kontrol grubu/gruplarını içermelidir. Uygun olması halinde, aktif kontrol grupları (örn. antijen içermeyen aşı formülasyonu) da çalışmaya dâhil edilebilir. Ayrıca, çalışma, aşılama ve devamındaki süreçte gözlenen herhangi bir advers etkinin geri döndürülebilir olma durumunu araştırmak ve/veya geç ortaya çıkabilecek advers etkilerin değerlendirilmesini yapmaya olanak verecek bir tasarıma sahip olmalı ve ilave deney grubu içermelidir.

Değerlendirilecek/izlenecek parametreler

Aşı adayının lokal enflamatuar reaksiyonlara neden olma potansiyeli ile lenf nodlarının drenajı, sistemik toksisite ve bağışıklık sistemi üzerindeki olası etkileri araştırılmalı ve toksisite çalışmaları ile kapsamlı bir veri seti elde edilmelidir. İzlenecek parametreler; günlük klinik gözlemler, haftalık vücut ağırlıkları ve gıda tüketimini içermelidir. Uygulamanın ilk haftası boyunca, mümkünse vücut ağırlığının ve gıda tüketiminin sıkça ölçülmesi tavsiye edilir, çünkü bu parametreler "hastalık" göstergesi de olabilen hassas parametrelerdir.

Hematolojik ve biyokimyasal ara analiz, ilk ve son dozun uygulanmasından yaklaşık 1-3 gün sonra ve toparlanma/düzelme süresinin sonunda yapılmalıdır. Hematolojik ve biyokimyasal ara analiz, en azından, göreceli ve mutlak diferansiyel beyaz kan hücresi sayımlarını (lenfositler, monositler, granülositler, anormal hücreler), albümin/globulin oranını, enzimlerin ve elektrolitlerin değerlendirmesini içermelidir. Bazı durumlarda, pıhtılaşma parametrelerini, idrar örneklerini ve serum immüno-globulin sınıflarını değerlendirmek de yararlı olabilir. Veriler sadece tedavi sürecinde değil, toparlanma/düzelme aşamasını takiben (örn. son dozu takiben 2 hafta veya daha fazla) de elde edilmeli ve potansiyel advers etkilerin alevlenme durumu ve/veya geri dönüşümlü olma durumu da değerlendirilmelidir.

Çalışma sonlandırıldığında, açlık dönemindeki son vücut ağırlıkları ölçülmelidir. Nihai kan örnekleri toplanmalı ve önceki paragrafta açıklandığı gibi serum kimyası, hematoloji ve immünolojik değerlendirmeler yapılmalıdır.

Doküman No	İlk Yayın Tarihi	Revizyon Tarihi	Revizyon No	Sayfa
KAD-KLVZ-21	06.10.2020	22.03.2024	02	8 / 17

Tam bir *gros nekropsi* yapılmalı, makroskopik lezyonlar incelenmeli ve organ ağırlıkları kaydedilmelidir. Dokuların histopatolojik incelemeleri yapılmalıdır. Özellikle uygulama bölgesindeki ve uzağındaki lenf nodları, timus, dalak, kemik iliği ve Peyer plakları veya bronşlarla ilişkili lenfoid doku dahil olmak üzere bağışıklık sistemi organları ile aşı adayının uygulama yolundan etkilenmesi beklenen organlar histopatolojik olarak dikkatle incelenmelidir. Histopatolojik incelemeler her zaman önemli organları (örn. beyin, böbrekler, karaciğer ve üreme organları) ve aşı uygulama yerini kapsamalıdır. İncelenecek dokuların seçimi (bağışıklık organları ve önemli organlarla sınırlı kısa bir listeden Ek1'de belirtilen organları/dokuları içeren kapsamlı bir listeye kadar), söz konusu aşı adayına ve aşı bileşenlerinin önceki klinik dışı çalışmalarından ve klinik araştırmalarından elde edilmiş bilgilere ve deneyimlere bağlı olacaktır. Klinik dışı çalışma ve klinik araştırma verilerinin mevcut olmadığı yeni aşılar için tam doku incelemesi gerekecektir.

3.3. Lokal tolerans

Lokal toleransın değerlendirilmesi, tekrarlı doz toksisite çalışmasının bir parçası olarak veya bağımsız bir çalışma olarak yapılmalıdır. Tolerans, uygulama yönteminin bir sonucu olarak aşı antijeni ile temas eden bölgelerde ve aşıya yanlılıkla maruz bırakılan (örn. aerosol ile uygulama sırasında göz maruziyeti) bölgelerde belirlenmelidir.

Bu çalışmaların yapılmasında "EMA: Guideline on non-clinical local tolerance testing of medicinal products" kılavuzu referans alınabilir.

3.4. Özel immünolojik araştırmalar ve toksisite değerlendirmesi

Bazı durumlarda, klinik dışı çalışmalardan ve klinik araştırmalardan veya doğal hastalık verilerinden elde edilen bağışıklık yanıtlarının değerlendirilmesine ilişkin sonuçlar (örn. immün komplekslerin presipitasyonu, konağın kendi antijenik belirleyicilerine karşı hümorale veya hücre-aracılı immün yanıt oluşturması gibi) toksisitenin immünolojik yönlerini gösterebilir. Bu gibi durumlarda, gözlenen etkinin mekanizmasını araştırmak için ek çalışmalar gerekebilir.

Aşı adayı belirleyicileri ile konakçı moleküllerinin büyük oranda benzerliği otoimmün reaksiyonlara neden olabilir. Bu nedenle konakçı antijeninin karakteristiklerine benzer karakteristikler içeren aşı antijenleri ile çalışılırken, bu benzerliğin otoimmüniteye yatkınlık oluşturmadığı kabul edilmiş olsa bile dikkatli olunmalıdır. Otoimmün patoloji ile ilişkili hastalıklar için aşı geliştirilirken yukarıdaki hususlar iyi değerlendirilmeli, uygun hayvan modellerinin seçiminde dikkatli olunmalıdır.

Antijenler, adjuvanlar, yardımcı maddeler veya koruyucular tarafından indüklenen aşırı duyarlılık reaksiyonları söz konusu olduğunda, ek araştırmalar gerekli olabilir.

3.5. Üreme ve gelişimsel toksisite çalışmaları

Çocukluk döneminde uygulanması öngörülen aşılar için gelişimsel toksisite çalışmaları genellikle gerekli değildir. Bununla birlikte, aşı için hedef popülasyon hamile kadınlar ve çocuk doğurma potansiyeli olan kadınları da içeriyorsa, üretici/geliştirici tarafından bu tür çalışmaların yapılmasının gerekli olmadığına dair bilimsel ve klinik olarak yeterli bir kanıt ortaya konmadığı sürece gelişimsel toksisite çalışmaları yapılmalıdır.

Gelişmekte olan embriyo ve fetüste veya yeni doğanda herhangi bir istenmeyen etki görülmesi durumu, koruyucu aşılar için temel olarak değerlendirilmesi gereken parametredir. Bu nedenle üreme toksisitesi değerlendirmeleri genellikle doğum öncesi ve doğum sonrası gelişimsel çalışmalarla sınırlıdır. Doğurganlık ve süttten kesilme sonrası ile ilgili değerlendirmelerin yapılmasına ilişkin ihtiyaç ise ürün bazında değerlendirilmelidir. Seçilen hayvan modeli, aşıya karşı bağışıklık yanıtı geliştirmeli ve bu yanıt genellikle serum antikör düzeyi ölçümü ile gösterilmelidir. Embriyo veya fetüsün maternal antikora maruz kaldığını doğrulamak için kordon veya fetal kandaki aşı kaynaklı antikörün ölçülmesi ile maternal antikör transferinin

Doküman No	İlk Yayın Tarihi	Revizyon Tarihi	Revizyon No	Sayfa
KAD-KLVZ-21	06.10.2020	22.03.2024	02	9 / 17

değerlendirilmesi önemlidir. Uygulama yolu, klinik olarak önerilen uygulama yoluna karşılık gelmelidir. İdeal olan deney hayvanına maksimum insan dozunun uygulanmasıdır. Tam insan dozunu uygulamak mümkün değilse (örn. uygulanabilecek toplam hacim üzerindeki sınırlamalar veya maternal strese yol açabilecek lokal toksisite gözlenirse) mg/kg bazında insan dozunu aşan ve hayvanda bağışıklık tepkisi indükleyebilen bir doz kullanılmalıdır.

Organogenez döneminde aşının olası olumsuz etkileri değerlendirilmelidir. Kullanılan çoğu hayvan modelinin gebelik süresinin nispeten kısa olması nedeniyle, embriyo veya fetüsün aşı kaynaklı bağışıklık yanıtına maksimum maruz kalmasını sağlamak için sıklıkla çiftleşme öncesi aşı uygulanması gereklidir. Koruyucu bir aşı için uygulanacak doz sayısı, yanıtın başlama zamanına ve süresine bağlıdır. Gebelik dönemi boyunca yüksek antikor seviyesini korumak ve geliştirmekte olan embriyoyu aşı formülasyonunun bileşenlerine maruz bırakmak için gebelik döneminde belirli zamanlarda rapel aşılamaya gerekebilir. Aşı adayının embriyo veya fetüs üzerindeki olası toksik etkilerinin değerlendirildiği sonlanım noktaları arasında, bunlarla sınırlı olmamakla birlikte canlılık, rezorpsiyon, düşük, fetal vücut ağırlığı ve morfolojik değerlendirme bulunmalıdır.

Ayrıca, yavruların büyüme eğrisini, vücut ağırlığı artışını, emme aktivitesini ve canlılığını değerlendirmek için çalışma tasarımındaki izlem süresinin doğumdan süttten kesilene kadar geçen süreyi kapsamaması önerilmektedir. Hayvanların yarısı sezaryen ile doğurtulmalı, diğer yarısının cerrahi müdahale olmadan yavrularını doğurmasına izin verilmelidir.

Bu çalışmaların yapılmasında "*ICH S5(R3): Detection of toxicity to reproduction for human pharmaceuticals*" kılavuzu referans alınabilir.

3.6. Genotoksisite ve karsinojenisite çalışmaları

Aşı adayları için normal olarak genotoksisite çalışmalarına gerek yoktur. Ancak aday aşının formülasyonuna göre (örneğin DNA aşıları ve nükleik asit zinciri yapısındaki adjuvanları içeren aşılar), insan genomunu etkilemesi olasılığının varlığında genotoksisite çalışmasının yapılması istenir. İlk kez kullanılacak adjuvanlar ve katkı maddelerinin olması durumunda da bu aşı bileşenleri için genotoksisite çalışmaları gerekli olabilir. Bu durumlarda insana ilk uygulama öncesi mutasyonlar ve kromozomal hasar için in vitro testler yapılmalıdır.

Genotoksisite çalışmalarının yapılmasında "*ICH S2(R1): Genotoxicity testing and data interpretation for pharmaceuticals intended for human use*" kılavuzu referans alınabilir.

Aşı antijenleri ve DSÖ'nün izin verdiği adjuvanlar için karsinojenisite çalışmaları gerekli değildir. Bununla birlikte, bu çalışmalar yeni adjuvanlar ve katkı maddeleri gibi belirli aşı bileşenleri için gerekli olabilir.

Bu çalışmaların yapılmasında "*ICH S1(A): The need for carcinogenicity studies of pharmaceuticals*", "*ICH S1B: Carcinogenicity: testing for carcinogenicity of pharmaceuticals*" ve "*ICH S1C (R2) Dose selection for carcinogenicity studies of pharmaceuticals*" kılavuzları referans alınabilir.

4. PRİMER FARMAKODİNAMİK ÇALIŞMALAR

4.1. İmmünojenisite çalışmaları

Aşı adaylarının farmakodinamik çalışmaları genelde immünojenisitenin değerlendirilmesi için yapılır. İmmünojenisite çalışmaları, klinik gelişim planını destekleyen kavram kanıt verisi elde edilmesini sağlar. Uygun hayvan modellerinden elde edilen immünojenisite verileri, ürünün immünojenik özelliklerinin belirlenmesine olanak sağlar. Bununla birlikte klinik araştırmalarda değerlendirilecek dozların, doz şemalarının ve uygulama yollarının seçimine rehberlik eder.

İmmünojenisite çalışmalarında kullanılacak hayvan türünün, ürüne immünojenisite yönünden duyarlı olması gerekmektedir. İmmünojenisite çalışmaları, aşı adayının immünojenik özelliklerini değerlendirmeyi

Doküman No	İlk Yayın Tarihi	Revizyon Tarihi	Revizyon No	Sayfa
KAD-KLVZ-21	06.10.2020	22.03.2024	02	10 / 17

sağlayabilecek aşı antijenine yanıt verebilen bir hayvan modeli kullanılarak yapılmalıdır. Seçilen hayvan türü ve modelinin uygunluğu ve seçilme sebebi gerekçelendirilmelidir.

İmmünojenisite çalışmaları, aşılanan hayvanlardaki immün yanıtı (ör. hüморal ve/veya hücreseл immün yanıt) değerlendirmelidir. Oluşan immün yanıtı bağı olarak bu tür çalışmaların, aşılanan hayvanlarda serokonversiyon oranlarını, antikor titrelerinin geometrik ortalamalarını ve hücreseл immünitenin değerlendirmesine yönelik ölçümleri içermesi beklenir. Mümkün olan durumlarda, immün yanıtın koruyucu etkiyi oluşturan fonksiyonel immün yanıt (ör. nötrale edici antikorlar) olarak değerlendirilmesi tercih edilmelidir.

Uygulama yoluna bağı olarak uyarılan immün yanıtın türü ve şiddeti etkilenebilmektedir. Bu nedenle immünojenisite çalışmalarında kullanılacak uygulama yolu, aday aşı için kullanılması düşünülen yol dikkate alınarak belirlenmelidir.

Bir aşı birden fazla tanımlanmış antijenden oluşuyorsa her antijene verilen yanıt ayrı ayrı değerlendirilmelidir.

İmmünojenisite çalışmalarının en uygun bilimsel standartların garanti edilmesi koşuluyla İLU (GLP) şartlarında yapılması zorunlu değildir.

4.2. Koruyucu etkililik (challenge) çalışmaları

Hayvan modellerinin uygunluğunu doğrulamak ve aşı adayının koruyucu etkisini araştırmak için ilgili enfeksiyöz ajan ile koruyucu etkililik (challenge) çalışmalarının gerçekleştirilmesi beklenir. Bu tür çalışmalardan elde edilen verilerin yorumlanmasında, hayvan modelinin insanlardaki hastalığa ve bağışıklık tepkisine ne kadar benzediğı belirlenmeli ve buna uygun hayvan modelleri seçilmelidir.

İnsanlarda ilk klinik araştırmaya başlamadan önce koruyucu etkililik (challenge) çalışmalarının tamamlanması zorunlu değildir. Bununla birlikte, ürün geliştirme sürecinin erken döneminde kavram kanıt koruyucu etkililik (challenge) çalışmalarının yapılması ve daha fazla sayıda gönüllü içeren faz 2 ve faz 3 araştırmalar öncesinde aşı adayı için eksik olan koruyucu etkililik (challenge) çalışmalarının tamamlanması beklenir.

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

Koruyucu etkililik (challenge) çalışmalarında biyogüvenlik seviyesi gerekliliklerine uyulmalıdır.

Koruyucu etkililik (challenge) çalışmalarının en uygun bilimsel standartların garanti edilmesi şartıyla İLU (GLP) şartlarında yapılması zorunlu değildir.

5. SEKONDER FARMAKODİNAMİK ÇALIŞMALAR (GÜVENLİLİK FARMAKOLOJİSİ)

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

Bu çalışmaların yapılmasında "ICH S7(A): Safety pharmacology studies for human pharmaceuticals" kılavuzu referans alınabilir.

Doküman No	İlk Yayın Tarihi	Revizyon Tarihi	Revizyon No	Sayfa
KAD-KLVZ-21	06.10.2020	22.03.2024	02	11 / 17

6. FARMAKOKİNETİK ÇALIŞMALAR

Farmakokinetik çalışmalara (örn. aşı bileşenlerinin serum veya doku konsantrasyonlarını belirlemek için) normal şartlarda gerek bulunmamaktadır. Bu çalışmalara gerek olup olmadığı ürün bazında değerlendirilmelidir (örn. yeni adjuvanlar veya alternatif uygulama yolları kullanıldığında). Bu çalışmalar, aşı bileşeninin enjeksiyon bölgesindeki birikimini ve sonraki dağılımını (örn. boşaltım lenf düğümlerine) değerlendirecek lokal biriktirme (*local deposition*) çalışmalarını içerebilir. Yeni formülasyonlar, yeni adjuvanlar veya alternatif uygulama yollarının (örn. oral veya intranazal) kullanılması amaçlandığında dağılım (*distribution*) çalışmaları yapılmalıdır.

7. ÖZEL DURUMLAR

7.1. Adjuvanlar

Adjuvanlar kullanılan antijen(ler)e karşı bağışıklık yanıtını arttırmak ya da belirli bir bağışıklık yanıtını hedeflemek için aşı formülasyonunda yer alabilir. Kullanılacak adjuvanların farmakope gerekliliklerine uymaları ve kabul edilemez toksisiteye neden olmamaları gereklidir.

Adjuvan aktivitesi birçok faktörün sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. Belirli bir antijen/adjuvan formülasyonu ile elde edilen immün yanıt, kural olarak başka bir antijene ekstrapole edilemez. Antijenler fiziksel ve biyolojik özelliklerine göre değişkenlik gösterirler ve bu nedenle adjuvanlar ile farklı etkileşimlere girebilirler. Adjuvanlar, hedeflenen bağışıklık yanıtı türüne göre seçilmelidir. Aşının uygulama yolu, bir adjuvanın etkililiğini ve güvenliliğini etkileyen önemli bir faktördür.

Adjuvanın etkisi, klinik dışı immünojenisite çalışmalarıyla gösterilmelidir. Yeni bir adjuvan için toksikolojik veri mevcut değilse öncelikle sadece adjuvanın toksisite çalışmaları yapılmalıdır. Adjuvanın güvenliliğinin tek başına değerlendirilmesinin yanı sıra, antijen ve adjuvan kombinasyonunun sinerjistik bir advers etki yapısı yapmadığı da hayvan modelinde değerlendirilmelidir. Türe özgü proteinler (örn. sitokinler) yeni adjuvanlar olarak kullanıldığında, türe özgü yanıt konusu düşünülmelidir.

Adjuvan ve aşı kombinasyonunun güvenlilik profili değerlendirilirken klinik kullanım için önerilen formülasyon kullanılmalıdır.

Adjuvan(lar)ın aşıda bulunan tüm antijenik bileşenlerle uyumluluğu (örn. bağışıklık etkileşimi eksikliği) değerlendirilmelidir.

Adjuvanların ve adjuvan/aşı kombinasyonlarının değerlendirilmesinde "EMA: Guidelines on adjuvants in vaccines for human use" ve "WHO: Guidelines on the nonclinical evaluation of vaccine adjuvants and adjuvanted vaccines" kılavuzu referans alınabilir.

7.2. Katkı maddeleri (yardımcı maddeler ve koruyucular)

Hakkında hiçbir toksikolojik veri bulunmayan yeni bir katkı maddesi kullanılacaksa önce sadece katkı maddesinin toksisite çalışmaları yapılmalıdır. Yeni bir katkı maddesinin tüm aşı antijenleri ile uyumluluğu, nihai aşı formülasyonunun toksikolojik profili ile birlikte belgelenmelidir.

Bu çalışmaların yapılmasında "EMA: Guideline on excipients in the dossier for application for marketing authorisation of a medicinal product" kılavuzu referans alınabilir.

7.3. Aşı formülasyonu ve uygulama cihazı

Aşı formülasyonunun yanı sıra aşı uygulaması için kullanılan cihazın varlığı da aşının etkililiği ve güvenliliğini etkileyebilir. Klinik dışı güvenlilik çalışmalarında aşı formülasyonu ve uygulama cihazı, klinik olarak kullanılması amaçlananlarla aynı olmalıdır. Ancak, klinik kullanıma yönelik uygulama cihazlarının test

Doküman No	İlk Yayın Tarihi	Revizyon Tarihi	Revizyon No	Sayfa
KAD-KLVZ-21	06.10.2020	22.03.2024	02	12 / 17

edilebildiği hayvan modelleri her zaman mevcut olmayabilir. Bu gibi durumlarda uygun hayvan modeli geliştirmek için klinik dışı güvenlilik çalışmalarından önce, hayvan modelinde aşının uygulama koşullarını tanımlamak ve optimize etmek için pilot çalışmalar yapmak gerekebilir.

7.4. Alternatif uygulama yolları

Alternatif yollarla (rn. intranazal, oral, rektal ve intravajinal yollar) uygulanan bir aşı formülasyonunun, potens, immünojenisite, tolere edilebilirlik, toksisite ve uzun vadeli güvenlilik açısından parenteral yol ile verilen ürünlerden farklı olabileceği varsayılabilir. Bu nedenle, farklı uygulama yolları önerildiğinde, bu yollarla aşı uygulanmasının güvenliliğini değerlendirmek için uygun bir hayvan modelinde klinik dışı güvenlilik çalışmalarının yapılması gerekmektedir.

Hayvan modelleri

Alternatif yollarla uygulanan aşılar için, hayvan modelinin seçiminde dikkat edilmesi gereken hususlar, aşı uygulama yerinin anatomisi ve fizyolojisi ile seçilen hayvanın aşı uygulaması için uygunluğu olmalıdır. Örneğin, intranazal uygulanan ürünler için, seçilen hayvan türü ürünün sprey ile uygulanmasına olanak sağlayacak bir tür olmalıdır. Genel olarak, tavşanlar ve köpekler sprey cihazlarının kullanımı için uygun modellerdir, bununla birlikte bu hayvanlarda olfaktör bulbusa ulaşmak kolay olmadığından ürünün bu organa ulaşmasını sağlamak için özel tekniklerin kullanılması gerekmektedir. Fare ve sıçanlar kullanılışlı modeller olmasına rağmen, bu türlere intranazal uygulama yapılması teknik olarak zordur. Primatlar, söz konusu enfeksiyöz ajana duyarlı olmaları durumunda, intranazal uygulama için tercih edilebilecek türlerdir.

Belirli bir uygulama yoluna ilişkin endişelerin olması veya hayvan modellerinin aşı adayına duyarlılıklarında tre özgü farklılıklar olması durumunda, ürünün klinik öncesi güvenliliğinin birden fazla güvenlilik çalışmasında ve birden fazla hayvan modelinde ele alınması gerekebilir.

Doz

Parenteral uygulama yolu ile yapılan çalışmalardan elde edilen optimal doz, alternatif uygulama yolları için kullanılan dozdan farklı olabileceğinden, doz bulma çalışmalarının önerilen uygulama yolu için de yapılması gerekebilir. Ayrıca, güvenlilik çalışmasının sonucunu etkileyebileceğinden, uygulanan aşının toplam hacmine de dikkat edilmelidir. Örneğin, farenin burun deliği başına 5 µl'den fazla test ürünün intranazal uygulanması, test ürünün burun mukozası tarafından absorbe edilmesinden ziyade yutulmasıyla sonuçlanacaktır.

Sonlanım noktaları

Toksisite sonlanım noktaları, "Toksikoloji alışmaları" bölümünde açıklanan sonlanım noktaları ile birlikte uygulama yoluna ve uygulama yolunun hedef organları ile ilişkili spesifik endişelere bağlı olarak ek sonuç ölçümlerini içerebilir. Örneğin, intranazal uygulamayı takiben aşı bileşenlerinin beyne potansiyel geçişi konusunda endişe varsa, immnohistoloji ve "in situ" yöntemler ile nörolojik analizler ve incelemeler gerekli olabilir. İnhalasyon yoluyla uygulanan aşılar için ise, sonuç ölçümleri solunum fonksiyon testlerini ve akciğerlerin histopatolojisi hakkındaki verileri içerebilir.

İmmünojenisite değerlendirmesi

Mukozal immün tepkileri ölçmek için uygun testlerin geliştirilmesi, mukozal immünojen olarak işlev görmesi beklenen aşılar için önemlidir. Tek başına serolojik testler mukozal bir aşı için ilgili immün yanıtı yansıtmayabilir. Bu nedenle, serolojik ölçümlere ek olarak uygun parametrelerin (rn. T hücre yanıtlarını, antikör salgılayan hücreleri ve sitokin üretimini değerlendirmesi gibi) eklenmesi gerekebilir. Ek olarak, aşı

Doküman No	İlk Yayın Tarihi	Revizyon Tarihi	Revizyon No	Sayfa
KAD-KLVZ-21	06.10.2020	22.03.2024	02	13 / 17

antijeninin uygulandığı yerden uzak bölgelerde lokal ve sistemik yanıtların indüksiyonunu değerlendirmek için analizlerin yapılması gerekebilir.

8. AŞI TÜRLERİNE YÖNELİK GEREKLİLİKLER

Bu kılavuzda özetlenen çalışma stratejilerine ek olarak, belirli ürün tipleriyle ilişkili özel güvenilirlik endişelerini ele almak için uygun *in vitro* ve *in vivo* test yöntemleri kullanılarak başka çalışmaların yapılması ve/veya açıklanan stratejilerde değişiklik yapılması gerekebilir.

DSÖ ve Avrupa Birliğinin aşı türüne özgü olarak yayımlamış olduğu kılavuzlar ve rehber dokümanlar klinik dışı çalışmaların tasarlanması, yürütülmesi ve yorumlanması konularında referans alınabilir.

9. YÜRÜRLÜK

Bu Kılavuz Kurum Başkanı Onayı ile yürürlüğe girer.

10. YÜRÜTME

Bu Kılavuz hükümlerini Kurum Başkanı yürütür.

11. REFERANSLAR

- EMA: Guideline on non-clinical local tolerance testing of medicinal products, 01.05.2016 (EMA/CHMP/SWP/2145/2000).
- EMA: Guideline on excipients in the dossier for application for marketing authorisation of a medicinal product, 01.01.2008 (EMA/CHMP/QWP/396951/2006).
- EMA: Guidelines on adjuvants in vaccines for human use, 31.07.2005 (EMA/CHMP/VEG/134716/2004).
- EMA: Guideline on clinical evaluation of vaccines - Revision 1, 01.02.2023 (EMA/CHMP/VWP/164653/05 Rev..)
- EMA: Guideline on the non-clinical investigation of the dependence potential of medicinal products, 23/03/2006 (EMA/CHMP/SWP/94227/2004).
- ICH M3(R2): Non-clinical safety studies for the conduct of human clinical trials for pharmaceuticals, 11 June 2013.
- ICH M7(R2) Guideline on assessment and control of DNA reactive (mutagenic) impurities in pharmaceuticals to limit potential carcinogenic risk, 3 April 2023.
- ICH S1(A): The need for carcinogenicity studies of pharmaceuticals, 01 July 1996
- ICH S1B(R1) Guideline on testing for carcinogenicity of pharmaceuticals, 16 March 2023 (EMA/774371/2022)
- ICH S1C (R2) Dose selection for carcinogenicity studies of pharmaceuticals, 01 October 2008.
- ICH S2(R1): Genotoxicity testing and data interpretation for pharmaceuticals intended for human use, 11 February 2013.
- ICH S4 Duration of chronic toxicity testing in animals (rodent and non rodent toxicity testing), November 1998 (CPMP/ICH/300/95).
- ICH S5(R3): Detection of toxicity to reproduction for human pharmaceuticals, 18 February 2020.
- ICH S6(R1): Preclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals, June 2011.
- ICH S7(A): Safety pharmacology studies for human pharmaceuticals, 8 November 2000.
- ICH S7B The non-clinical evaluation of the potential for delayed ventricular repolarization (QT interval prolongation) by human pharmaceuticals, 12 May 2005 (CPMP/ICH/423/02).
- ICH S8 Immunotoxicity Studies For Human Pharmaceuticals, 31 October 2005 (CHMP/167235/2004).

Doküman No	İlk Yayın Tarihi	Revizyon Tarihi	Revizyon No	Sayfa
KAD-KLVZ-21	06.10.2020	22.03.2024	02	14 / 17

- ICH Q5A(R2) Guideline on viral safety evaluation of biotechnology products derived from cell lines of human or animal origin, 14 December 2023).
- ICH Q5C: Quality of biotechnological products: Stability testing of biotechnological/biological products, 30 November 1995.EMA: Guideline on repeated dose toxicity, 01.09.2010 (CPMP/SWP/1042/99).
- ICH Q5D Derivation and characterisation of cell substrates used for production of biotechnological/biological products, 31 March 1998.
- WHO Guidelines on nonclinical evaluation of vaccines (WHO Technical Report Series, No. 927, 2005).
- WHO Guidelines on the non clinical evaluation of vaccine adjuvants and adjuvanted vaccines (WHO Technical Report Series, No. 987, Annex 2, 2014).
- WHO Guidelines on clinical evaluation of vaccines: regulatory expectations (WHO Technical Report Series 1004, Annex 9, 2017).
- WHO Guidelines on stability evaluation of vaccines (WHO Technical Report Series 962, Annex 3, 2011).
- WHO Human challenge trials for vaccine development: regulatory considerations (WHO Technical document, Annex 10, TRS No 1004, 2017).
- Klinik Araştırmalarda Kullanılan Beşeri Tıbbi Ürünlerin Kimyasal ve Farmasötik Kalite Gerekliliklerine İlişkin Kılavuz, 22 Ocak 2024 (KAD-KLVZ-27).
- Klinik Araştırmalarda Kullanılan Biyolojik Tıbbi Ürünlerin Kalite Gerekliliklerine İlişkin Kılavuz, 22 Ocak 2024 (KAD-KLVZ-28).

REVİZYON TARİHÇESİ

Revizyon No	Revizyon Tarihi	Gerekçe ve Açıklamalar
00	06.10.2020	İlk yayım.
01	18.05.2021	"2.4.Stabilite" bölümünde güncelleme gerçekleştirilmiştir.
02	22.03.2024	Gözden geçirme yapılmış, gerekli yerler ve "11.Referans" bölümünde güncelleme gerçekleştirilmiştir.

Doküman No	İlk Yayın Tarihi	Revizyon Tarihi	Revizyon No	Sayfa
KAD-KLVZ-21	06.10.2020	22.03.2024	02	15 / 17

EK-1

Tekrarlı doz toksisite çalışmalarında toplanacak dokuların listesi

- Böbreküstü bezleri
- aort
- kemik (femur) ve eklem
- kemik iliği içeren kemik (sternum)
- kemik iliği smearleri⁶
- beyin
- bronş (ana kök)
- çekum
- kolon
- onikiparmak bağırsağı
- epididimis
- gözler
- kalp
- ileum
- enjeksiyon yerleri
- jejunum
- böbrekler ve üreterler
- larenks
- karaciğer
- akciğerler
- lenf nodu (mandibuler)
- lenf nodu (mezenterik)
- meme bezi
- yemek borusu
- optik sinirler
- overler ve over kanalları
- pankreas
- paratiroid bezleri
- peyer plakları
- hipofiz bezi
- prostat
- rektum
- tükürük bezleri (mandibuler, parotit, sublingual)

⁶ Çalışma sırasında öldürülen ve can çekişen hayvanlar da dahil olmak üzere tüm hayvanlar için planlanan otopside kemik iliği yaymaları (*smear*) hazırlanmalıdır. Yaymalar metanol içinde sabitlenmeli ve daha sonra May-Grunwald-Giemsa yöntemi ile boyanmalıdır.

Doküman No	İlk Yayın Tarihi	Revizyon Tarihi	Revizyon No	Sayfa
KAD-KLVZ-21	06.10.2020	22.03.2024	02	16 / 17

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

Doküman No	İlk Yayın Tarihi	Revizyon Tarihi	Revizyon No	Sayfa
KAD-KLVZ-21	06.10.2020	22.03.2024	02	17 / 17