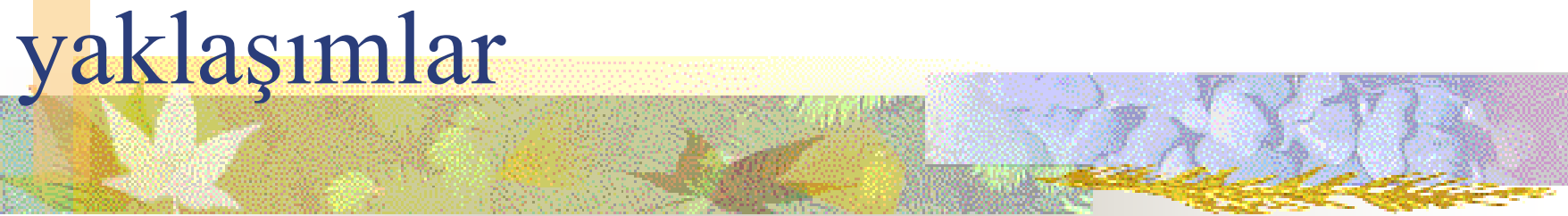


BCG yerine geçebilecek yeni yaklaşımlar



Dr. A. Nedret KOÇ

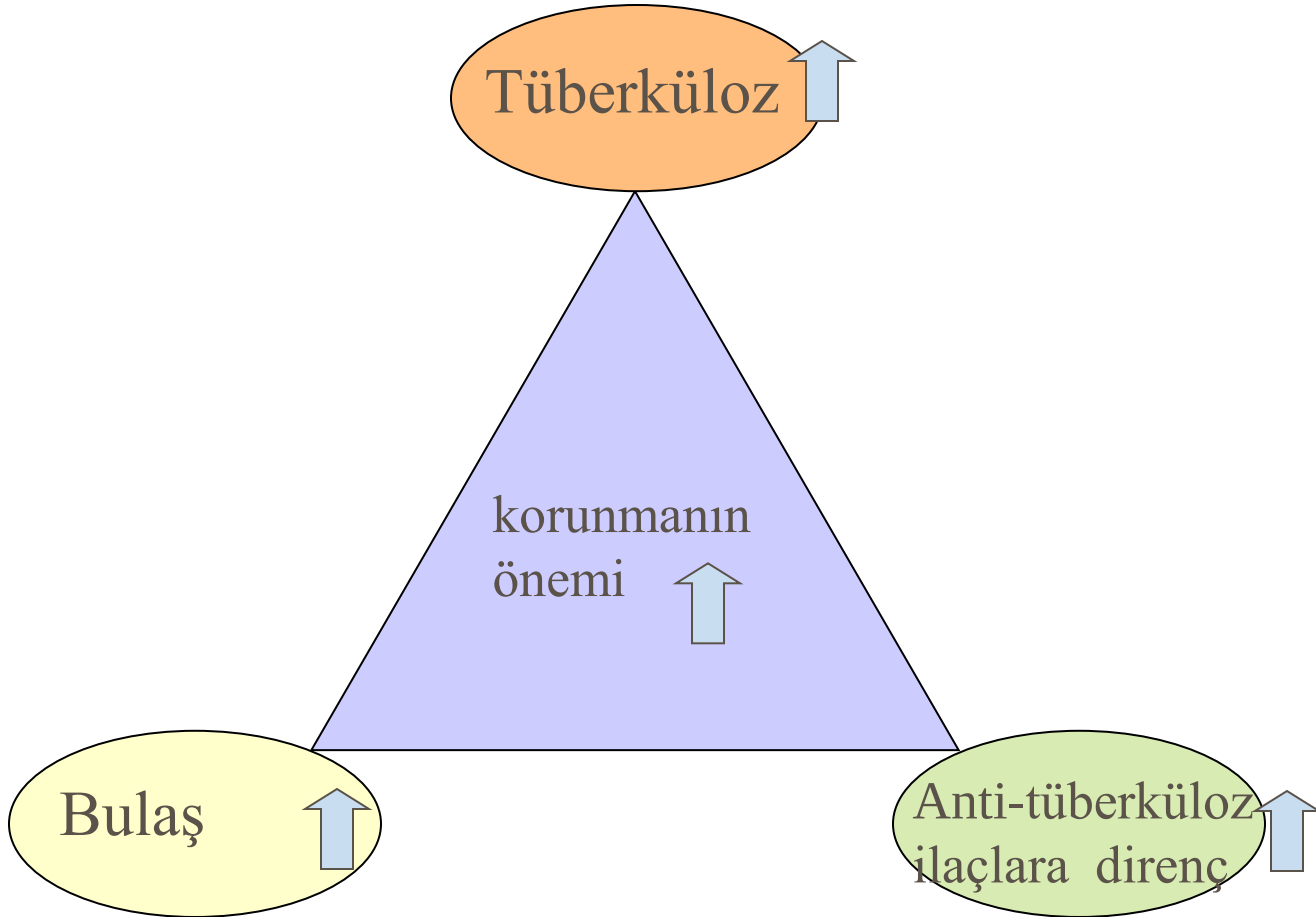
Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
KAYSERİ



Sunum Planı

- BCG aşısının tarihçesi
- BCG aşısının kullanımı
- BCG aşısının koruma düzeyi
- BCG yerine geçebilecek yeni yaklaşımlar
- Tüberküloz Tedavisinde kullanılması için geliştirilen aşılar
- Sonuçlar

- 
- Sağlıklı yaşamın en uygun yolunu hastalandıktan sonra tedavi değil hastalanmaktan korunma olduğu bilinmektedir



BCG (Bacillus-Calmette-Guerin) aşılarının tarihçesi

- İnsanda kullanılan ilk atenüe aşı
- *Mycobacterium bovis* suşunun pasajları (231) ile (1908-1921) aktivitesini azaltarak virulansını kaybettirilerek elde edilmiştir





BCG aşısı

- BCG önce 1921' de Fransa da çocuklara ağızdan verilmiş
- 1929-30 da Almanya da Lübeck faciası olmuş: BCG nin virulan suşla kontaminasyonu 250 çocuğun 72'si ölmüştür
- 1927 yılında deri içi
- 1947'de deriye uygulama yöntemleri gelişmiştir.

Smith KC, et al. Tuberculosis vaccines. In: Plotkin SA, Orenstein WA, Offit PA, eds. Vaccines. 5th ed. China Saunder-Elsevier, 2008: 857.

Türkiye’ de BCG aşı uygulaması

- İstanbul’ da yeni doğan çocuklara ağız yolu ile 1931 yılında verilmeye başlanmıştır
- 1947 yılından itibaren yılın bir haftasını verem haftası olarak kabul etmiştir
- 1953’ de DSÖ ile işbirliği yapılarak tüm ülkede BCG aşı kampanyası başlatılmıştır

Tuğluoğlu F.
İstanbul Üniversitesi Yakın Dönem Türkiye Araştırmaları Dergisi, 2011:7.



İmmünite süresi

- BCG aşılamanın immünite süresi belli değildir.
- Yaş artıkça korumanın azaldığı
- Tek doz alımı BCG aşısı sonrası 50-60 yıl sonra koruyuculuk %52 olduğu bildirilmektedir

al-Kassimi FA, et al. Am J Respir Crit Care Med 1995;152(5 Pt 1):1575-8.

Aronson NE, et al. JAMA 2004;291(17):2086-91.



Aşılanma endikasyonu ve kullanımı

- Tuberküloz (TB) prevalansına bağlı olarak BCG aşılama politikası dünyada farklıdır.
- DSÖ tarafından TB prevalansı orta ve yüksek ülkelerde yenidoğan aşılaması önerilmektedir.
- Çoğu ülkelerde BCG ilk doz yenidoğan dönemi 0-3 ayda, daha sonra ilkokul çağında tekrarlanır. Ancak tek doz yeterli olduğu öne sürülmektedir.



Ülkemizde çocuklara BCG aşısı

- doğumdan 0-3 ay sonra tek doz intradermal
- İlk 3 ayda PPD deri testi yapılmadan,
- (≥ 4 ay) PPD deri testi yapılarak uygulanır



BCG aşısının etkinliği

- BCG aşısı %0-80 arasında etkinlik gösterebilmektedir
- BCG aşısının en önemli yararı çocuklarda TB menenjit ve yaygın hastalığa karşı % 75-86 koruyucu olmasıdır

Leung AS, et al. BMC Genomics 2008; 9: 413.

Brewer TF, et al. Clin Infect Dis. 1995;20(1):126-35.

BCG aşısının etkinliği

- Tüberkuloz dışı mikobakterilerle (TDM) karşılaşma, BCG aşılamasına karşı oluşan immün yanıtı engellemektedir
- TDM, BCG ve *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) deki yaygın antijenlere sahiptir.
- TDM prevalansı düşük olduğu bölgelerde yüksek aşı koruyuculuğu varken yüksek bölgelerde düşük koruyuculuk görülmektedir.
- BCG aşılaması *M. lebrae* karşıda da koruma sağlar

Stanford JL, et al. *Tubercle*. 1981;62(1):55-62.

Karonga Prevention Trial Group. *Lancet* 1996; 348(9019):17-24.

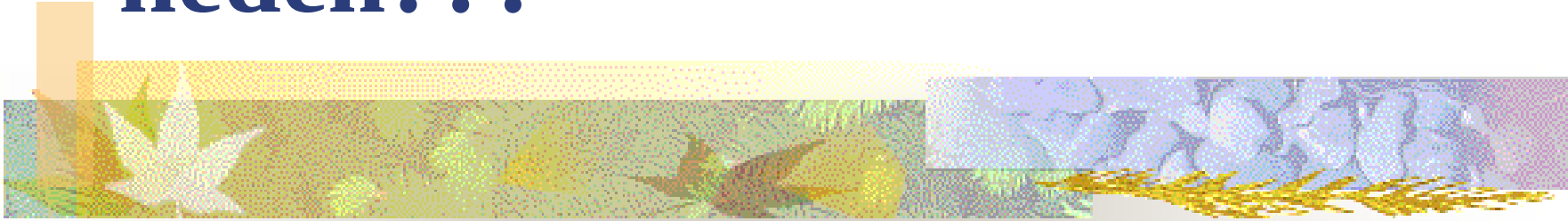


BCG aşısı

- İlk kez kullanılan *M. bovis* ten üretilen Pasteur kökeni referans kökenidir.
- Üretilen kültüre ve tekniğe göre immun yanıt açısından farklıdır
- Aşı kökenleri ‘güçlü’ (Pasteur 1173P2, Danimarka 1331)
- ‘zayıf’ (Glaxo 1077 ve Tokyo 172) olarak isim
- ‘Güçlü’ daha immünojendir ve güçlü gecikmiş tip hipersensitivite reaksiyonuna neden olur ve daha iyi koruma sağlar
- Lokal granülom güçlü kökenlerle daha fazla görülür.

Smith D, et al. J Biol Stand 1979;7(3):179-97.

BCG nin değişken etkisi neden???



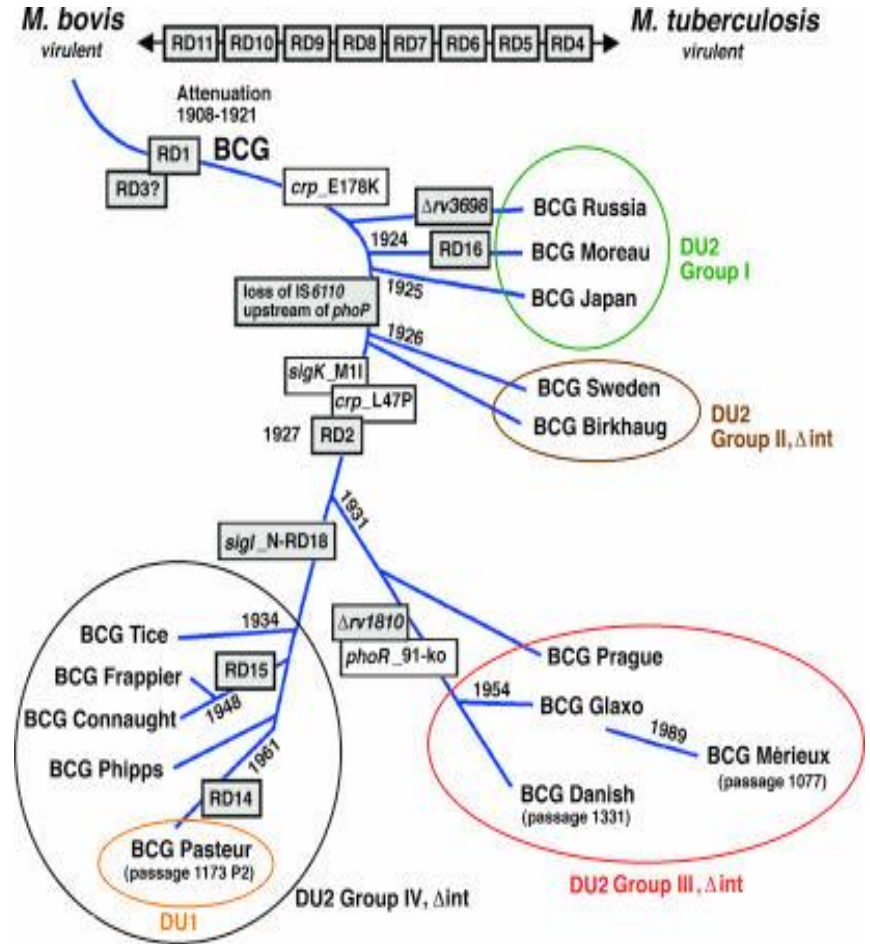


BCG nin değişken etkisi

- BCG suşlarında genetik varyasyonlar
- Popölasyonlardaki genetik varyasyonlar
- TB suşları arasında virulansta farklı (Ör:Beijing)
- Endojen infeksiyonlardan koruyor olması eksojen re-infeksiyonlardan korumaması
- TDM ile interferans (Ör:M.avium)
- Eşzamanlı parazitik infeksiyonlarla interferans (Th2 indikasyonu)

BCG aşısı

- *M. bovis* suşunun pasajlar esnasında genom da 16 genomik bölgelerde (RD1-RD16 artı nRD18) genomik delesyonlar oluşmuştur



Brosch et al PNAS, 2007,104: 5596

Atenüasyon sırasında gelişen delesyonlar ile farklılaşmalar

- RD1, diğer tüm BCG suşlarında delesyona uğramıştır, ESAT-6, CFP-10, Rv3873 ve diğerleri arasında PPE protein gibi T-lenfosit epitopları kodlar
[Junqueira-Kipnis AP, et al. Front Immunol 2014; 5/ 188:1-9.](#)
- RD2, Mpt64 ve CFP-21 içeren bir çok proteinleri kodlayan DNA segmentidir;
[Mittrucker Hwet al. Proc Natl Acad A Sci USA 2007;104: 12434–124.](#)
- RD14, PE- PGRS ve ve Rv1771 aileleri (gulonolakton dehidrojenaz) kodlayan bir DNA parçası
[Kaufmann SH, et al. Lancet Respir Med 2014;4: 301–321.](#)



Atenüasyon sırasında gelişen delesyonlar ile farklılaşmalar

- RD16, koloni morfolojik özellikleri ve hücre membran oluşumundan sorumlu olan Rv3405 kodlayan bir DNA parçasıdır ;

Hoft DF, J Infect Dis 2008;198: 1491–1501

- nRD18, genler, alternatif RNA polimeraz sigma faktörü kodlayan bir DNA parçasıdır. SigI dir. Bu gen sadece BCG Pasteur, Phipps, Frappier suşlarında kaybolduğu bildirilmektedir.

Mittrucker Hwet al. Proc Natl Acad A Sci USA 2007;104: 12434–124.



MTB, *M. africanum* ve *M. Bovis* suşlarında protein kodlayan farklılaşmış RD genom bölgesi

- **Bütün BCG sub-strains ve ensık bulunan çevresel TDM yoktur**
- **TB nın tanısında ve potansiyel aşı olarak umut vericidir**

Wang S, et al. Clin Vaccine Immunol 2013;20: 69-76.

Ansari MA, et al.. PLoS One 2011;6:e22889.



Recombinant BCG: innovations on an old vaccine. Scope of BCG strains and strategies to improve long-lasting memory

Adeliane Castro da Costa, Sarah Veloso Nogueira, André Kipnis and Ana Paula Junqueira-Kipnis *

Table 1 | BCG sub-strains genetic background used for recombinant BCG vaccines development and ability to induce memory and protection against tuberculosis.

Sub-strains	RDs ^a	Epitopes	No ^b	Protection better than BCG? ^c	Memory? ^d	Reference
Tokyo/Japan	RD1	359	3	Yes	Yes	(31, 32)
				Yes	No	(33)
Pasteur	RD1, RD2, RD14, nRD18,	331	6	Yes	No	(34)
				No	Yes	(35)
				No	No	(36–38)
				Yes	Yes	(39)
Danish/Denmark	RD1, RD2	329	11	No	Yes	(40)
				Yes	No	(41–45)
				No	No	(46–48)
				Yes	Yes	(49)
Tice	RD1, RD2, nRD18	328	2	Yes	No	(50)
				Yes	No	(51)
China/Shanghai	RD1, RD2	321	6	No	No	(52–56)
				Yes	No	(23)
Prague	RD1, RD2	318	3	No	No	(57, 58)

^aRD, region of difference.

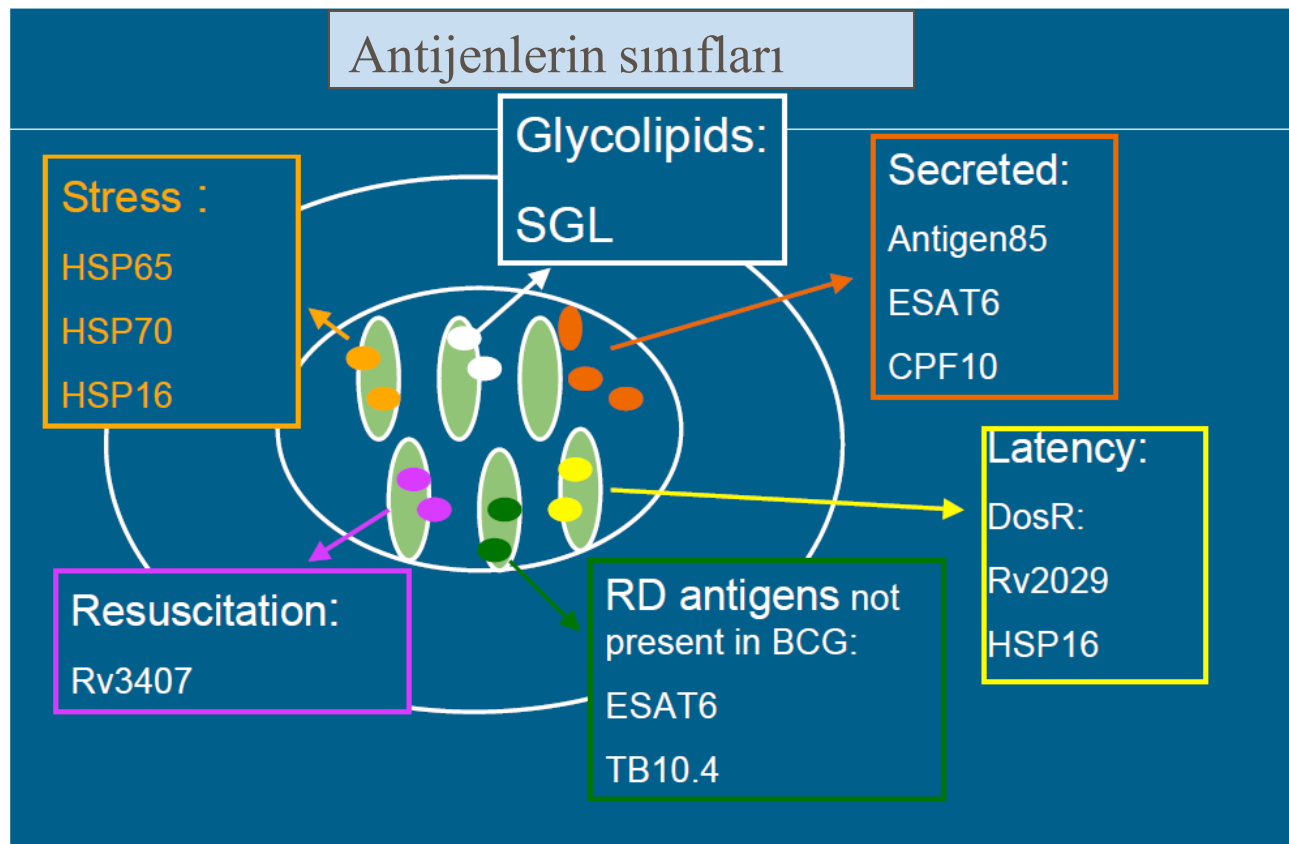
^bNumber of publications in the last 5 years.

^cProtection was evaluated by CFU analyses and considered when the bacterial load of challenged animals were lower than wild type BCG-vaccinated animals.

^dMemory was defined as CD4⁺ CD44^{hi} CD62L^{lo} or CD4⁺ IFN- γ producing T cells specific immune responses.

da Costa AC, et al. Front Immunol. 2014;5: 152-161.

Aşı çalışmalarında kullanılan antijenler



Son zamanlarda TB için aşı ile ilgili yapılan çalışmamalarda kullanılan antijenler

Kaynak	Antijen
2007	ESAT-6
2011	HspX ₉₁₋₁₁₀
2007	Ag85A
2008	PPE27kDa
2011	ESAT-6
2009	Hsp65
2006	ESAT-6
2011	ESAT-6
2008	Ag85B
2011	ESAT-6

da Costa AC, et al. Front Immunol. 2014;5: 152-161



Antigen 85 kompleks

MTB ve BCG nin doğal sekrete edilen proteinleri MTB genomunun üç bölgesinde kodlanır

Üç antijen ile ilişkili;

**Ag85A (32 kDa),
Ag85B (30 kDa),
Ag85C (32.5 kDa)**

Bu proteinler enzymatic mycolyl transferase aktivite

TB patogenezi esnasında Hücre duvar sentezinde asıl birleşenleri oluşumunda rol oynar



Antigen 85 kompleks

- TB tanısında önemli bir marker
- Klinik örneklerde (Kandan, balgamdan ve BOS) ve kültürden gösterilebilir
- Ag85A ve Ag85B major sekrete edilen proteindir ve hayvan modellerinde TB karşı immun koruma belirlenmiştir.

Malen H, et al.2008;67:245-52

Kashyap RS, et al.Med Sci Monit 2007;13:BR200-4.

Antijen tipi(lokalizasyonu)	İsmi	Biyolojik fonksiyonu
Salgısal antijen	Ag85	Ag85A, Ag85B, Ag85C Mikolil transferaz enzim Mikobakteri hücre duvar biyosentezinde gereklidir TB tanısı için predominant marker
	TB10.4	TB hastalarında tanımlanır İmmülojik özelliği yüksek Ag85B ile füzyonunda koruyucu aktivitesi güçlenir
	ESAT-6	Erken sekrete edilen antijenik target-6 RD1 bölgesinde kodlanır Aşı oluşumu: Ag85B-ESAT-6/CAF01 ESX1 sistem ile sekrete edilmiştir
	CFP10	Kültür filtrat protein 10 RD1 bölgesinde kodlanır Yüksek olarak İmmülojik T hücre antijenlerini ESX1 sistem ile sekrete edilmiştir
Intrasellüler antijenler	HSP70	Heat shock protein ATP az bağlanmayı içeren 70 kD ağırlıkta intrasellüler çaperon Reseptör aracı antijenlerin internalizasyonda fonksiyonunda görülür Antijenik peptidler için bağlanma ve antijen-spezifik T hücrenin çok efektif gererasyonunda



TB karşı yeni aşı

- Pediatri hastalarda şiddetli TB riskini azaltmalı
- Dünyada en yaygın olan erişkin akciğer TB karşı değişken korumayı düzeltmeli
- HIV pozitif çocuk hastalarda BCG nin yaygın hastalık riskini azaltmalı



Son yıllarda aşı çalışmaları

- Genetik modifiye BCG
- Protein antijenlerine karşı (Ag85, p65, ESAT-6) rekombinant subünit aşılar
- Konjuge karbonhidrat aşılar
- Mukozal aşılar
- Tedavi amaçlı aşılar



BCG' nin etkisinin artırılması

- rBCG aşılarının geliştirilmesinde önemli bir strateji olarak kabul edilmektedir.
- BCG' deki MTB proteinlerin füzyonu ve kombinasyonu
- vektörler ile proteinlerin ekspresyonu

Hoft DF, et al. J Infect Dis 2008; 198:1491–501.



rBCG geliştirilmesinin temel amacı

- BCG'ye benzer ya da üstün koruma ile uzun süreli işlevsel hafızasını indükleyebilen bir aşı tasarlamaktır.
- Hayvan modellerinde ve insan klinik denemelerinde, etkili rBCG aşılama çalışmaları bildirilmektedir
- rBCG aşılama çalışmalarının değerlendirilmesinde; sitokinlerin üretimi ve hem CD4 + T hem de CD8 + T hücrelerinin uyarılmış olduğunu belirlemek önemlidir .



rBCG geliştirilmesi

- Ag85B ekspresyonu oluşan rBCG:30, BCG göre daha fazla hafıza hücre ürettiği ve korumada faydalı olduğu bildirilmektedir

Hoft DF, et al. J Infect Dis 2008; 198:1491–501.

Recombinant BCG (rBCG)' nin immunojenitesi

- rBCG nin immunojenitesi BCG göre daha koruyucu olduğu ancak daha fazla çalışma yapılması gerekli olduğunu bildirilmektedir

da Costa AC, et al. PLoS One 2014;9(11):e112848.

Son zamanlarda BCG ile ilgili yapılan çalışmamalarda kullanılan suşlar, canlı türü, antijen ve koruma durumu (da Costa AC, et al.Front Immunol. 2014;5: 152-161)

Yıl	Suşlar	Model	Antijen	Koruma ^a
2011	BCGTokyo	fare	rBCG1:Ag85B–CFP10(rBCG1)/BCG2:Ag85B–CFP10–IL-12 (rBCG2)	↑Ex vivo
2008	BCG Tice	insan	rBCG30 (Ag 85B)	NE
2009	BCG Danish	Guine domuz	rBCG–E6 (ESAT-6)	↑
2011	BCG Danish	Guine domuz	rBCGacr	↑
2010	BCG Danish	fare	BCG:HspX/rBCG:85B	↑
2012	BCG China	fare	rBCG–AE	↓
2011	BCG Prague	fare	rBCGureC:hly or rBCGureC:hly	=
2009	BCG Danish	fare	BCG: rBCG–Ag85B–Mpt64–Mtb8.4	↑
2012	BCG Danish	fare	rBCG:Ag85B–ESAT-6–Rv2608	NE
2009	BCGTokyo	eşek	rBCG–Ag85A	NE
2008	BCG Danish	eşek	rBCG AFRO-1	↑
2010	BCG China	In vitro	rBCG:Quimera 85B + ESAT-6	↑
2010	BCG China	fare	rBCG:PE–MPT64/rBCG/HSP60MPT64	↑
2011	BCG Danish	fare	rBCGDureC:hly+	NE
2012	BCG Pasteur	fare	rBCG: Ag85A/rBCG:Ag85B/rBCG:Ag85A–Ag85B	↑
2010	BCG Prague	Fare	rBCG: Ag85A–ESAT-6/rBCG: Ag85A/rBCG: ESAT-6	=
2011	BCG Pasteur	eşek	AFRO-1, Ag85A, Ag85B e TB10.4.	NE
2011	BCGChina	fare	BCGs:BCG:Ag85c, BCG:INV, BCG:PPE, BCG:FBP e BCG:CFP	=
2012	BCG Tokyo	fare	rBCGDureC:hly+)	=
2010	BCG Pasteur	fare	rBCG: pHspX–Ag 85B	↑
2011	BCG Pasteur	fare	rBCGs:BCG:GM-CSF/BCG:ESAT-6/BCG:GMCSF–ESAT-6	NE
2008	BCGTokyo	fare	rBCG–85B–IL-15/rBCG–85B	=
2008	BCG Danish	Guine domuz	rBCG–85C	↑
2012	BCG Danish	insan	BCG DureC:hly Hm	NE



Subunit protein aşılar

- Özgül ve güvenli özellikleri taşıyan subunit protein aşılarının gelişimi gelecek vaat eden bir konu olduğu bildirilmektedir.
- Uygun immun yanıt gelişebilmesi için seçici immun epitoplara sahip olmalıdır.
- Tam bir bağışıklık yanıtı uyarma kapasitesi azdır aşı formülasyonuna adjuvantlar eklenmesi önerilmektedir.

Junqueira-Kipnis Apet al. Front Immunol 2014; 5/ 188:1-9.

Soares AP, et al. J Infect Dis 2013; 207(7):1084–94.



Subunit protein aşılar için adjuvanlar

- İmmun tepkisini güçlendirmek için
- MTB epitopları ile adjuvantların moleküller füzyonu, aşı geliştirmede önemli bir alandır
- Adjuvan olarak; **interlökinler**, **lipid**, **lipoprotein**, **Granülosit makrofaj- koloni stümile faktör (GM-CSF)** ve **immün uyarıcı peptitler** gibi moleküller
- Adjuvant moleküllerle subunit proteinlerin füzyon tek başına veya atenüe vektörler içerisinde etkinliği araştırılmaktadır
- rekombinant füzyon proteini ve adjuvanlar ile sağlanan koruma BCG ile benzer olduğu rapor edilmiştir

MTB antijenlerinin adjuvan molekülleri ile füzyonunun, kullanılan moleküler ve genel immün yanıtlarla değerlendirilmesi

Kaynak	Antijen	Adjuvan	Antikorlar	Sitokinler	CD4+	CD8+	Hafıza	Koruma
2007	ESAT-6	26 kDa lipoprotein	N	IL12p40↑	IFN γ ↑	N	N	=
2011	HspX ₉₁₋₁₁₀	Pam2Cys	N	IL6↑, IL12↑, IFN γ ↑	CD4+ IFN γ ↑	N	CD44 ^{hi} ↑ CD62 ^{hi} ↑ CD44 ^{hi} ↑ CD62 ^{lo} ↑	↑
2007	Ag85A	Oprl Lipoprotein	IgG↑	IL2↑, IL10 ↑, IFN γ ↑	N	N	N	=
2008	PPE27kDa	Flagellin	IgG1↑, IgG2a↑, IgG2b↑	IFN γ ↑	N	N	N	N
2011	ESAT-6	C-terminal Hsp70	IgG↑	IFN γ ↑, IL-4↑	N	N	N	N
2009	Hsp65	IL-2	IgG↑	IFN γ ↑ IL-2↑	N	CTL↑	N	=
2006	ESAT-6	IL-2	IgG↑	IFN γ ↑	N	CTL↑	N	N
2011	ESAT-6	IL-12p70	IgG↑, IgG1↑, IgG2a↑	IFN γ ↑	CD4+↑	CD8+↑	N	↓
2008	Ag85B	IL-15	N	IFN γ ↑	CD4+IFN γ +↑ CD4+CD44+↑	CD8+IFN γ +↑ CD8+CD44+↑	CD4+CD44+ CD62↑, CD8+CD44+ CD62+↑	↑
2011	ESAT-6	GM-CSF	IgG1↑, IgG2a↑, IgG2b↑	IFN γ ↑ GM-CSF↑	CD4+↑	CD8+↑	N	N



Protein antijenlerine karşı (ESAT-6) rekombinant subünit aşılar

- ESAT-6 ve IL-2 ihtiva füzyon proteini, BCG ile karşılaştırıldığı çalışmada,
- rekombinant aşılarda ile aşılanmış BALB / c farelerde; daha fazla IgG ve IFN γ üretimi gösterdiği belirlenmiş
- rekombinant aşılarda koruma hakkında değerlendirilme yapılamadığı bildirilmiştir

Ottenhoff TH. Trends Microbiol 2012; 20: 419–28.



Hibrit 1 aş1

- Erken sekrete edilen antijenik target-6 (ESAT-6) ve Ag85B
- Adjuvan: dimethyl diocta-decyl ammonium bromide-monophosphoryl lipid A 8102
 - IC31
 - mucosal adjuvant LTK63 eklenmiş

Hayvan modellerinde koruma gösterdiği belirlenmiş doğal TB li gönüllülerde klinik olarak güçlü immunojenik olduğu ve güvenle kullanılabilceği bildirilmektedir [van Dissel JT, et al. 2010;28:3571-81.](#)

[Agger EM, et al. Vaccine 2006;24:5452-60.](#)



Hibrit aşı; H56 subunit aşı;

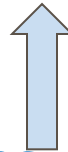
- **Rv2660c ile kombine edilen ESAT-6, Ag85B** birleşenlerin bir füzyon proteindir
- CD4+ T hücre cevabı artırarak koruyucu immunitiyi sağlar
- Latent TB farelerde MTB ile karşılaşması sonucu reaktivasyonu kontrol eder

Aagaard C, et al. **A multistage tuberculosis vaccine that confers efficient protection before and after exposure.**

Nat Med 2011;17:189-94.

Ag85B-ESAT-6

- TB ye karşı etkisi yüksek
McShane H. Philos Trans R Soc
Lond B Biol Sci 2011;
366:2782-9



RD1 bölgesinde lokalize olan önemli birleşenler **ESAT-6** ve **kültür filtrate protein 10**

- T hücresi aktivasyonda ve makrofaj inhibisyonunda önemli olduğunu
- Hem virulansta hemde korumada önemli olabileceği bildirilmektedir
Ganguly N, et al 2008;88:510-7.



Exchanging ESAT6 with TB10.4 in an Ag85B Fusion Molecule-Based Tuberculosis Subunit Vaccine: Efficient Protection and ESAT6-Based Sensitive Monitoring of Vaccine Efficacy

Jes Dietrich, Claus Aagaard, Robert Leah, Anja W. Olsen, Anette Stryhn, T. Mark Doherty and Peter Andersen

J Immunol 2005; 174:6332-6339; ;

Ag85B-TB10.4 (Hibrit 4)

- ESAT-6 yerine TB10.4 antijen kullanılmış
- yeni protein aşı
- IFN- γ (+) TNF- α (+)IL-2(+) ile multi fonksiyonel profillerle hafıza CD4+ T hücrelerin profilasyonunu artırarak koruyucu aşı etkinliği gösteriyor .

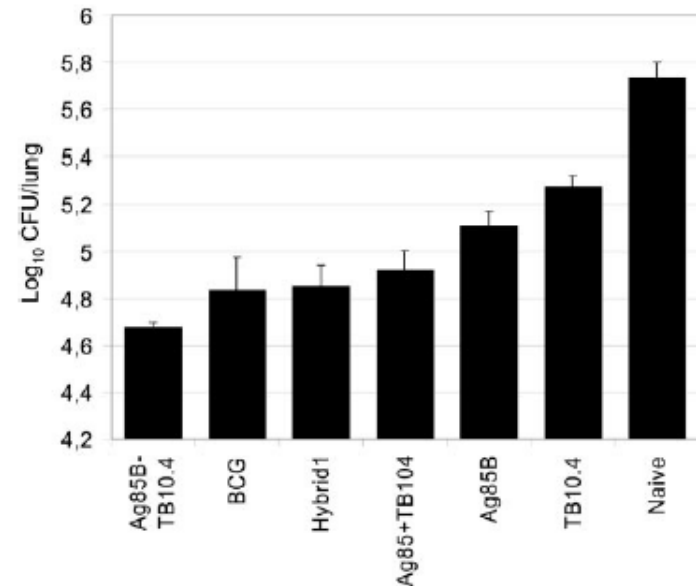


FIGURE 7. Protection in mice (expressed as log₁₀ CFU) compared with unvaccinated controls challenged by the aerosol route with virulent *M. tuberculosis* 10 wk after the first vaccination. Six weeks after challenge, the mice were killed, and the bacterial burden (CFU) was measured in the lung. The Ags used for vaccination are indicated. Results are the mean and SEM from groups of five mice.

Ag85B-ESAT-6 ve Ag85B-TB10.4

Hibrit1

- Her iki aşının TB karşı koruculuğu olduğu belirlenmiştir

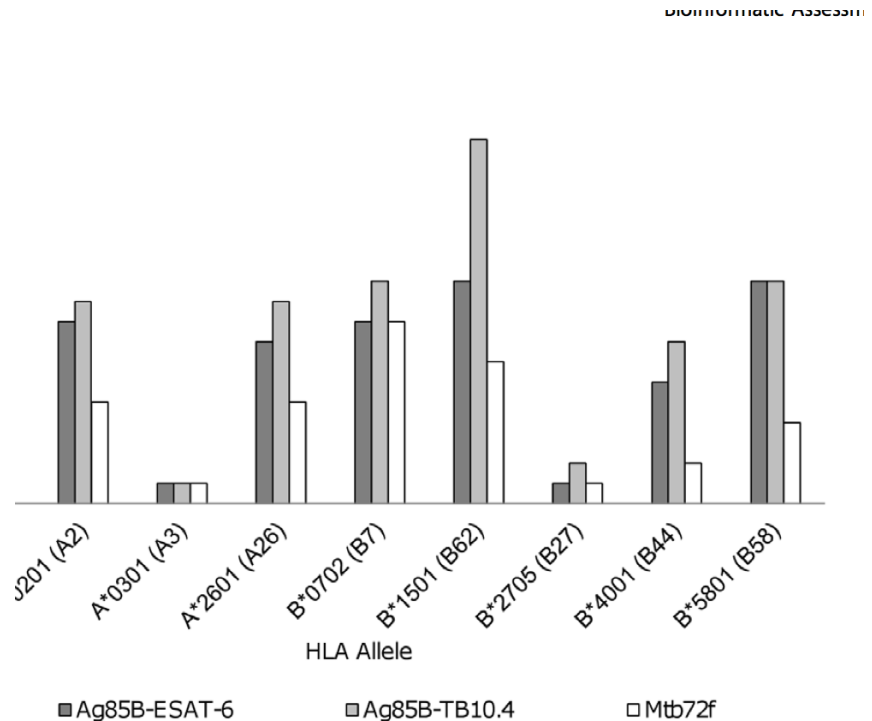
Davila, J.et al.

PLoS One. 2012; 7(7): e40882.

Davila J, et al.

J Biomed Biotechnol. 2010;
2010: 208371

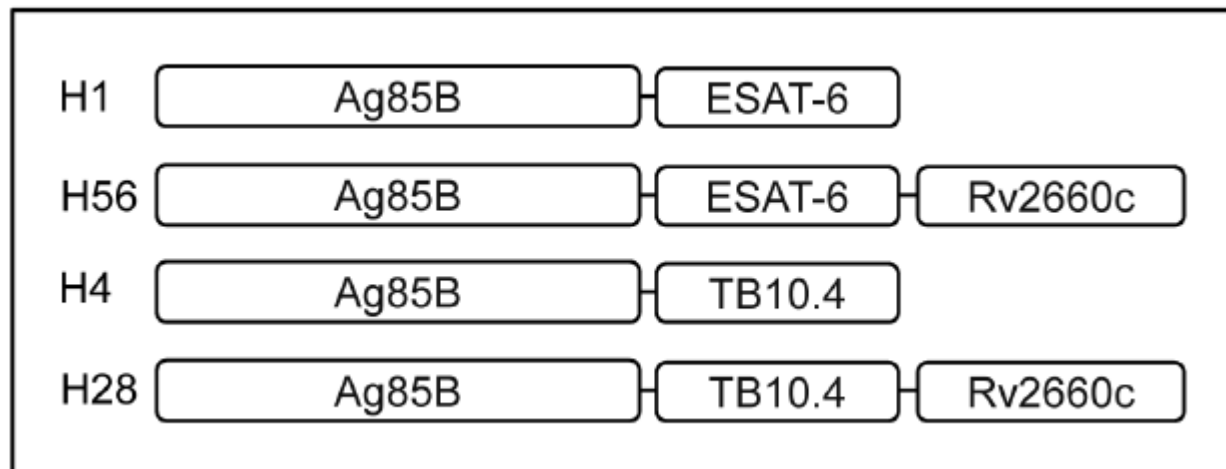
Hibrit 4



Class I HLA-A, -B, and -C alleles. A comparison of the number of Ag85B-ESAT-6, Ag85B-TB10.4, and Mtb72f antigens across the nine Class I HLA supertype alleles. 1040882.g001

ESAT-6 (EsxA) and TB10.4 (EsxH) Based Vaccines for Pre- and Post-Exposure Tuberculosis Vaccination

Truc Hoang¹, Claus Aagaard¹, Jes Dietrich², Joseph P. Cassidy³, Gregory Dolganov⁴, Gary K. Schoolnik⁴, Carina Vingsbo Lundberg⁵, Else Marie Agger¹, Peter Andersen^{1*}



Hoang T, et al.

PLoS One. 2013 Dec 12;8(12):e80579.

ESAT-6 (EsxA) and TB10.4 (EsxH) Based Vaccines for Pre- and Post-Exposure Tuberculosis Vaccination

Truc Hoang¹, Claus Aagaard¹, Jes Dietrich², Joseph P. Cassidy³, Gregory Dolganov⁴, Gary K. Schoolnik⁴, Carina Vingsbo Lundberg⁵, Else Marie Agger¹, Peter Andersen^{1*}

- TB öncesi ve sonrası
- ESAT-6 ve TB10.4 içeren aşıların koruyucu etkisi olduğu
- H1, H4, H56 ve H28 hibrit aşılarında koruyucu etkisi olduğu
- Ancak hibrit aşılar kadar etkin olan tek başına ESAT-6 olduğu bildirilmektedir

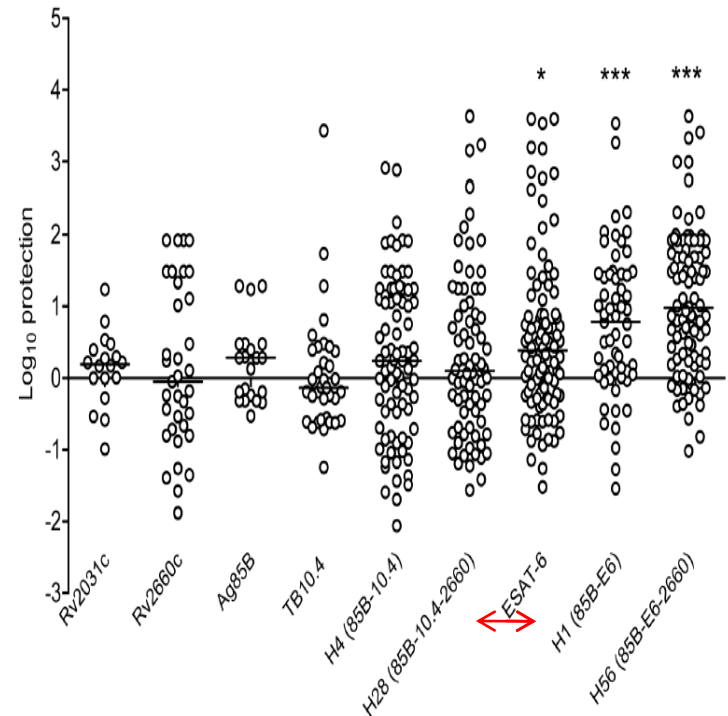


Figure 6. Meta-analysis of post-exposure vaccine efficacy. The post-exposure activity of various vaccines was tested in fifteen individual experiments including a total number of 726 mice. The data shown is a meta-analysis performed by determining the log₁₀ protection for each individual experiment as follows: $\log_{10} \text{protection} = \text{median } \log_{10} \text{CFU}_{\text{control group}} - \log_{10} \text{CFU}_{\text{vaccinated animal}}$ as described in the material and methods section. Data are displayed as single scatter plot with a black line indicating the median values. Values marked with an asterisk above ESAT-6, H1, and H56 are significantly different from the un-vaccinated control groups as assessed by the non-parametric Kruskal-Wallis multiple comparison test (***, $p < 0.001$, **, $p < 0.01$, *, $p < 0.05$).

doi:10.1371/journal.pone.0080579.g006



Plazmid-tabanlı aşı çalışmaları

- Faz I klinik faza geçmiştir
- Bu aşılarda, antibiyotik direnç genlerinin geçişini önlemek için oksotrofik BCG suşları gelişimi önemli olduğu bildirilmektedir .

Feng G, et al. PLoS One. 2013 Apr 23;8(4):e61135.

Rahman S, et al. Mol Med. 2012 May 9;18:647-58.

Prime-Boost Vaccination with rBCG/rAd35 Enhances CD8⁺ Cytolytic T-Cell Responses in Lesions from *Mycobacterium Tuberculosis*-Infected Primates

Sayma Rahman,¹ Isabelle Magalhaes,^{2,3} Jubayer Rahman,¹ Raija K Ahmed,³ Donata R Sizemore,⁴ Charles A Scanga,⁴ Frank Weichold,⁴ Frank Verreck,⁵ Ivanela Kondova,⁵ Jerry Sadoff,⁴ Rigmor Thorstensson,³ Mats Spångberg,³ Mattias Svensson,¹ Jan Andersson,^{1,6} Markus Maeurer,^{2,3} and Susanna Brighenti¹

- rBCG/rAd35aşı: pazmid-vektör rekombinant BCG
- MTB antijenleri: Ag85A, 85B ve TB10.4
- adenovirus 35 (rAd35) aşı vektör ile MTB antijenleri kaplanmış
- Mtb antigen MPT64 azalma ve koruma ile ilgili CD8 T hücrelerinde artış belirlenmiştir.

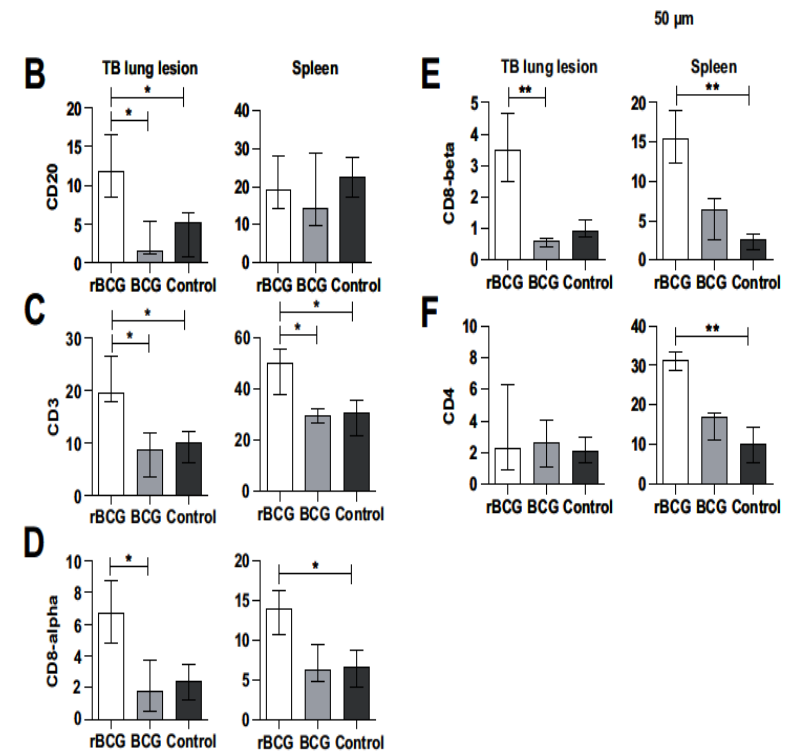


Figure 3. Vaccination with rBCG/rAd35 resulted in elevated levels of different lymphocyte populations in lung and spleen from Mtb-infected animals. (A) Microscopic images of CD80+ B cells (upper panel) and CD3+ (middle panel) and CD8+ T cells (lower panel) in

Nanopartikül-dayanan rekombinant DNA plazmid aşısı (AŞI: nano-Esat-6/3e-FL)

- Esat-6 üç T hücre epitop (**Esat-6/3e**) ve fms-trozine kinaz 3 bağlanan (**3e-FL**) gen (**Esat-6/3e-FL**) ve kitosan (CS) ile kaplanan nanopartikül (**nano-chitosan**) ile
- Fare model intramusküler aşılama
- MTB karşı yüksek T hücre cevabı göstererek TB korumada önemli bir aşı olabileceği bildirilmektedir.

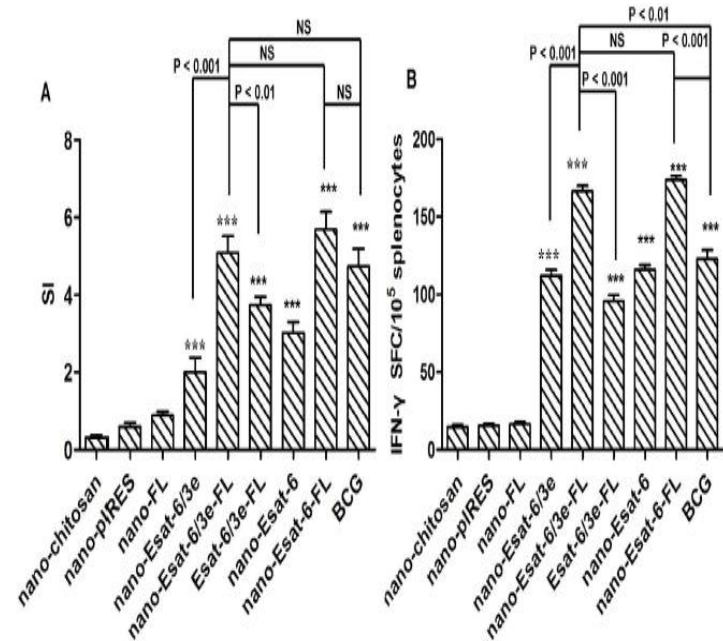


Figure 3. The proliferation of the splenocytes and number of IFN- γ ⁺ T cells of the mice immunized by nano-Esat-6/3e-FL. A.

Feng G, et al. PLoS One. 2013 Apr 23;8(4):e61135.



Antijen 85A ekspresyonu vektör olarakta poxvirus kullanıldığı aşı “Modified Vaccinia Ankara (MVA)”

Güney Afrika’ da 2-6 yaş HIV negatif BCG yapılmış
çocuklarda

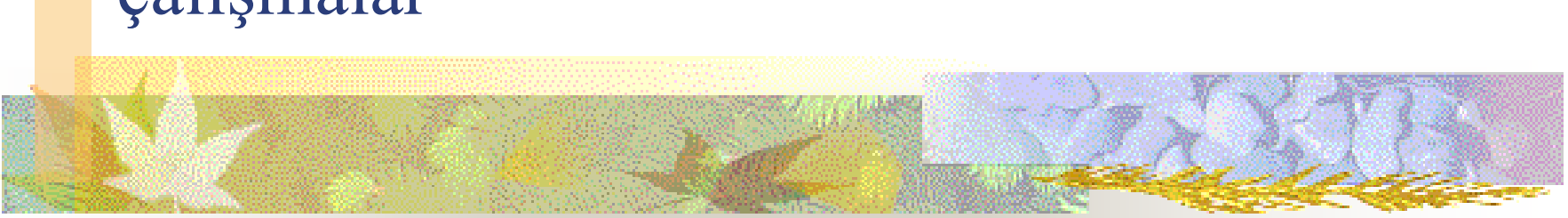
Faz IIb olarak değerlendirilen çalışmada,

aşısı iyi tolere edildiği ve hücresel immün yanıtı
indüklediği,

ancak korumasında kontrole (plesoba) göre bir fark
olmadığı bildirilmektedir



Aşının veriliş yolundaki değişiklikle ilgili çalışmalar



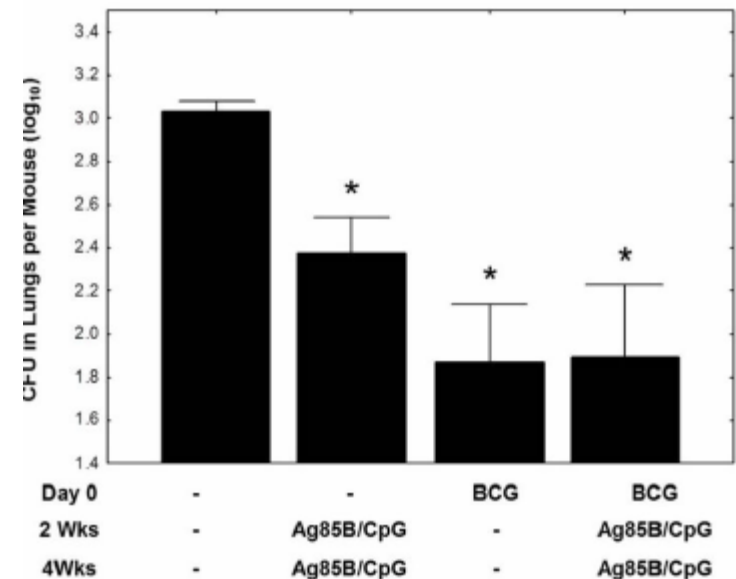
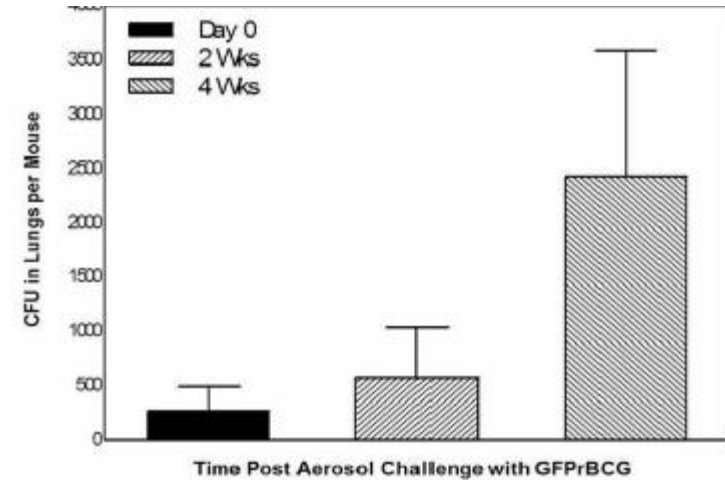
Investigations of TB vaccine-induced mucosal protection in mice

Azra Blazevic^a, Christopher S. Eickhoff^a, Jaime Stanley^a, Mark R. Buller^b, Jill Schriewer^b, Eric M. Kettelson^b, and Daniel F. Hoft^{a,b,*}

TB karşı mukozal bağışıklık

- r(Ag85B / CpG) ve/veya BCG intranazal
- CpG ile adjuvanlanmış
- Farelerde; Mukozal enfeksiyona karşı koruma yeteneğinin iyi olduğu akciğer enfeksiyonları için daha fazla araştırma gerekmektedir

Blazevic A, et al. *Microbes Infect.* 2014;16(1):73-9.

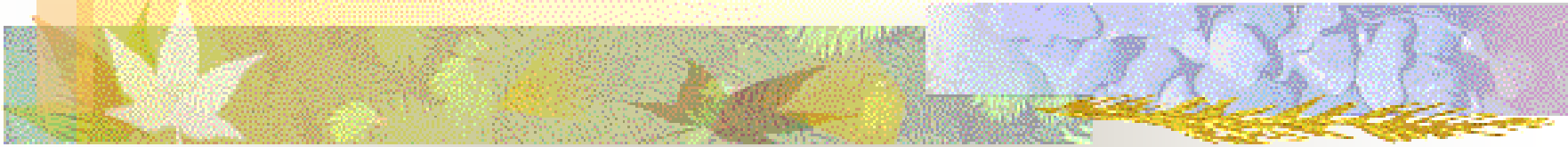


Aşının veriliş yolundaki değişiklikler

- r(hPIV2-Ag85B) aşısı fare modelinde
- Vektörü human parainfluenza type 2 virus (rhPIV2)
- Antijen Ag85B
- rekombinant (rhPIV2-Ag85B) aşısı
- İntranazal
- Etkinliği belirlenmiş
- yeni aşısı ve veriliş yolu için ek çalışmalar gerektiği bildirmişlerdir.

Watanabe K, et al. Vaccine 2014;32(15):1727-35.

TB karşı karbohidrat-protein konjüge aş1





TB karşı karbohidrat-protein konjüge aşı

- MTB nin **lipoarabinomannan** (LAM) arabinomannan kısmının **proteinle** (mikobakteriyel) konjugasyonun
- Fare ve domuzda koruyucu etkisinin olduğu
- hem hücresel hem de hümoral yanıtı etkilediği bildirilmektedir.

Källenius G, et al. Trends Microbiol. 2008;16(10):456-62.



Konjuge oligosakkarit-protein aşı denemeleri

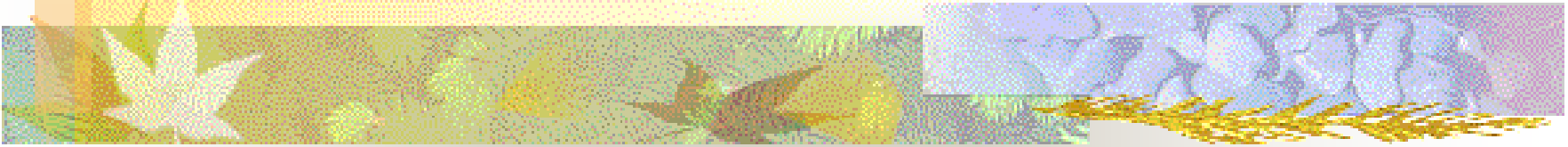
- *Mycobacterium tuberculosis* Rv H37 suşunun lipoarabinomannan spesifik oligosakkaritlerinin
- Tetanoz ve difteri toksoid ile konjugasyonu ile oluşan
- Aşı yüksek ölçüde immünojenik yanıt oluşturduğu kanıtlanmıştır

Hamasur B, et al. Vaccine. 1999;17(22):2853-61.

Facciuolo A, Mutharia LM.

Front Cell Infect Microbiol. 2014 Sep 17;4:133..

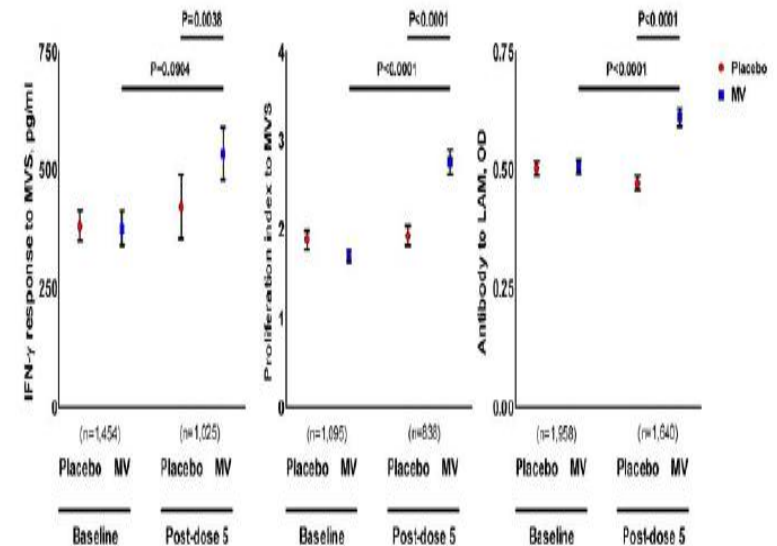
HIV infekte kişilerde TB korumak



Immunogenicity of a Protective Whole Cell Mycobacterial Vaccine in HIV-infected adults: A Phase III Study in Tanzania

Timothy Lahey, MD MMSc^{1,*}, Robert D. Arbeit, MD^{2,*}, Muhammad Bakari, MD, PhD³, C. Robert Horsburgh, MD⁴, Mecky Matee, PhD, DDS³, Richard Waddell, DSc¹, Lillian Mtei, MD³, Jenni M. Vuola, PhD^{5,†}, Kisali Pallangyo, MD³, and C. Fordham von Reyn, MD¹

- HIV infekte kişilerde TB korumak
- inaktive *M. vaccae* (MV) aşılar faz III
- İmmünizasyon ile ilgili immülojik cevap oluşmuş
- TB den koruma ilişkili bir tam bilgi oluşmamıştır



Lahey T, et al. **Vaccine**. 2010 Nov 10;28(48):7652-8.

Koruyucu tüberküloz aşıları

Aşı	Aşı durumu
VPM1002 (rBCGDureC:hly)	<u>Çocuklarda: Phase IIa devam ediyor</u>
MTBVAC (rMtbDPhoPDFadD26	Erişkinlerde: Phase I devam ediyor
MVA85A (MVA expressing Rv3804)	<u>Çocuklarda: Phase IIb tamamlanmış (etkisiz)</u>
H1 (Rv1886 + Rv3875 fusion protein in adjuvant IC31 or CAF01)	Erişkinlerde: Phase I devam ediyor
H4 (Rv1886 + Rv0288 fusion protein in adjuvant IC31)	Erişkinlerde: Phase I devam ediyor
MVA85A	<u>Erişkinlerde: Phase IIb devam ediyor</u>
Ad5HUAG85A (Human Ad 5 expressing Rv3804)	Erişkinlerde: Phase I tamamlanmış
M72 (Rv1196 + Rv0125 fusion protein in adjuvant AS01)	<u>Erişkin ve çocuklarda: Phase IIa devam ediyor</u>
H56 (Rv1886 + Rv3875 + Rv2660 fusion protein in adjuvant IC31)	Erişkinlerde: Phase I devam ediyor
ID93 (Rv2608 + Rv3619 + Rv3620 + Rv1813 fusion protein in adjuvant GLA-SE)	Erişkinlerde: Phase I devam ediyor

Weiner J, Kaufmann SHE. J Inter Med, 2014, 275; 467–480.

Tüberküloz Tedavisinde kullanılması için geliştirilen aşılar





Tüberküloz Tedavisinde kullanılması için geliştirilen aşılar

- İnaktive TDM suşlarından oluşan aşılar faz çalışmaları başlamıştır
- DAR-901, *M. vaccae* suşlarından geliştirilmiştir.
- Faz III çalışmasında araştırmanın yorumlamada zorluklar olduğu bildirilmektedir

von Reyn CF, et al. AIDS 2010; 24: 675–85.

- M72/AS01E aşı faz IIa düzeyinde test edilmektedir

Frick M. et al. London: HIV i-Base and Treatment Action Group, 2013; 263–83.

Tüberküloz Tedavisinde kullanılması için geliştirilen aşılar

- RUTI aşısı erişkin ve adölesan grupta temas sonrası aşılama, latent TB enfeksiyonu için düşünülmüştür. Faz IIb aşamasında beklemektedir.

Cardona PJ. RUTI: Tuberculosis (Edinb) 2006; 86: 273–89

- Çin ilaç sanayisinde (AnHui Longcom), *M. vaccae* suşlarında geliştirilmiştir ve tedavi amacıyla da düşünülmüştür. Sonuçlar açık değil

de Bruyn G, Garner P. Cochrane Database Syst Rev 2010; 1: CD001166.(45,49).



Tüberküloz Tedavisinde kullanılması için geliştirilen aşılar

- Hindistan’ da lepra tedavisi için öldürülmüş *Mycobacterium indicus pranii* suşlarından aşı geliştirilmiştir.
- TB karşı faz III çalışmasında koruyucu etkisi belirlenmiş ve lisans almasına rağmen
- Daha fazla değerlendirilmesi gerektiği bildirilmektedir

. Frick M. et al. London: HIV i-Base and Treatment Action Group, 2013; 263–83.

Randomized, placebo-controlled phase II trial of heat-killed *Mycobacterium vaccae* (Longcom batch) formulated as an oral pill (V7)

Yuri V Efremenko,¹ Dmytro A Butov,² Natalia D Prihoda,¹ Svetlana I Zaitzeva,² Larisa V Yurchenko,¹ Nina I Sokolenko,¹ Tetyana S Butova,² Anna L Stepanenko,² Galyna A Kutsyna,³ Vichai Jirathitikal⁴ and Aldar S Bourinbaia^{4,*}

- Sıcakla öldürülmüş *Mycobacterium* aşısı: Faz II
- Immunoterapi; oral olarak 10 µg (V7) aşısı Longcom company sağlamış
- Daha fazla değerlendirilmesi gerektiği bildirilmektedir

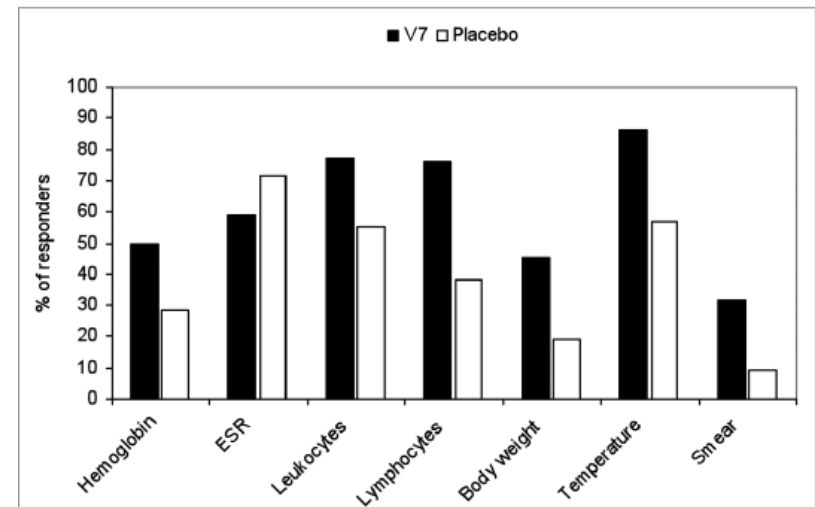


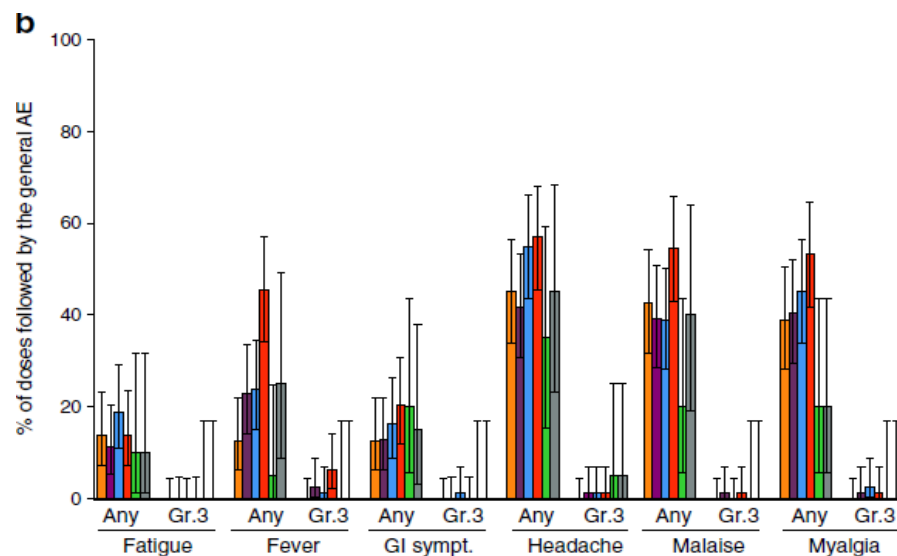
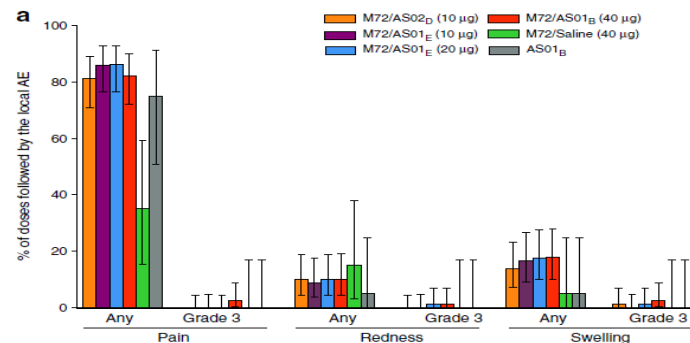
Figure 1. The proportion of patients who responded favorably in two treatment arms.

A Randomized, Controlled Dose-Finding Phase II Study of the M72/AS01 Candidate Tuberculosis Vaccine in Healthy PPD-Positive Adults

Jaime Montoya • Juan Antonio Solon • Soledad Rosanna C. Cunanan • Luz Acosta • Anne Bollaerts • Philippe Moris • Michel Janssens • Erik Jongert • Marie-Ange Demoitié • Pascal Mettens • Salvacion Gatchalian • Carlota Vinals • Joe Cohen • Opokua Ofori-Anyinam

■ M72 antijen (10/20/40 μg doses) ve liposome-based AS01 Adjuvant İmmunitesi belirlenmiş

■ Ayrıca 7 gün takip edip klinik olarak bütün dozların tolere edilebileceğini belirleyerek etkin en düşük dozun; 10 μg antijende olarak bildirmiştir



Tuberküloz tedavisinde kullanılması için geliştirilen aşılar ve çalışmaların durumu

Aşı	Durum
<i>M. indicus pranii</i>	Yaklaşık 29 000 katılımcılı faz III çalışmamın analizi retrospektif olarak devam etmektedir. Hindistanda belli hastalarda tedavi amaçlı lisans almıştır.
<i>M. vaccae</i>	Faz IIa aşaması tamamlamıştır: TB li hastalarda <i>M. vaccae</i> immunotherapinin faydası tam olarak belirlenememiştir.
RUTI	Latent TB enfeksiyonuda faz IIa aşaması tamamlanmıştır
Dar-Dar	TB terminal hastalarda faz III aşamasındadır
M72-AS01	Kesin TB li hastalarda faz IIa aşamasındadır

Weiner J, Kaufmann SHE. J Inter Med, 2014, 275; 467–480.



Sonuç olarak;

- BCG aşılamalarına rağmen TB tüm dünyada önde gelen ölüm sebeplerinden biri olarak devam etmektedir
- BCG yerine geçebilecek aşı çalışmaları hızla devam etmektedir.
- Bu çalışmalar daha deney aşamasında olduğu görülmektedir.
- Hayvan modellerindeki çalışmalarda umut verici sonuçlar alındığı bildirilmiş



Sonuç olarak;

- İnsan çalışmalarında da Faz1- FazIIb-Faz III' e kadar ulaşılmıştır.
- Bu çalışmaların sürdürülmesi insan modellerindeki sonuçların bir an önce değerlendirilmesi TB' dan korunmada çok önemli olacaktır.



Teşekkürler