

Aşı üretim süreçlerinde kalite denetimi

Prof. Dr. Asuman Bozkır



Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesinden mezun oldu. 1989 yılında farmasötik teknoloji alanında doktora eğitimini tamamladı. İngiltere Aston Üniversitesinde farmasötik biyoteknoloji alanında doktora sonrası çalışmalar yaptı. 1997 yılında farmasötik teknoloji doçenti, 2004 yılında profesör oldu. 1998 yılından beri Sağlık Bakanlığı TİTCK'de İlaç, Aşı ve Biyoteknolojik Ürünler Teknik İnceleme, Değerlendirme ve Ruhsatlandırma Komisyonu Üyesi, 2018 yılından itibaren TÜSEB Aşı Bilim Kurul Üyesi, 2020 yılından itibaren ise Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanlığı görevini sürdürmektedir. Araştırma alanları farmasötik biyoteknoloji ile ilaç formülasyonlarının tasarlanması, stabilitesi ve uygulama yollarıdır.

Sena Ayçiçek



Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesinden mezun oldu. 2018-2019 yılları arasında özel sektörde Ar-Ge uzmanı olarak görev yaptı. 2019 yılından itibaren Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumuna bağlı İlaç Ruhsatlandırma Dairesinde çalışmaktadır. Araştırma alanları biyolojik, biyoteknolojik, biyobenzer ürünler ve ruhsatlandırma süreçleri, aşı ve peptid/protein yapılı ilaçların formülasyonlarıdır.

Aşılar, canlı veya ölü antijenik mikroorganizmalar, bakteriyel toksinler, toksoidler, bakteri ve virüslerin belirli bölümlerinden antijenik maddeler içeren ve uygulandıkları organizmada belirli bir bulaşıcı veya zehirleyici ajana karşı bağışıklık kazandıran farmasötik müstahzarlardır. Aşı üretimi yukarı akış ve aşağı akış prosesi olarak iki ana başlıkta gerçekleşir. Yukarı akış prosesi aşı üretimi için suşların seçilmesi ve mikroorganizmaların çoğaltılması aşamalarından oluşur. Aşağı akış prosesi ise mikroorganizmaların izolasyonu ve saflaştırılması, organizmanın inaktivasyonu, aşı formülasyonu, kalite kontrol ve lotların ayrılması aşamalarından oluşur.

1) Yukarı Akış Prosesi

a) Aşı üretimi için suşların seçilmesi: Aşı üretimi az miktarda belirli bir virüs (patojen-tohum) ile başlar ve aksi belirtilmedikçe bir tohum serisi sistemi kullanılarak üretilir. Her tohum serisi için kaynak, işlem geçmişi (saflaştırma ve karakterizasyon prosedürleri dahil) ve saklama koşullarının kaydı tutulmalıdır. Virüs suşu kullanılacak ise aşı suşunun filogenetik kanıtı, mutasyona uğrayıp uğramadığı ve bu amaçla yapılan pasaj sayısı sunulmalıdır. Aşı üretiminde mik-

roorganizma saflaştırılmalıdır. Tohum, virüsün istenenden daha güçlü veya daha zayıf olmasını önleyen, genellikle donmuş olarak "ideal" koşullar altında tutulmalıdır. Aşı üretimini optimize etmek için başlangıçta küçük "laboratuvar ölçeğinde" geliştirilen hücre kültürü prosesi daha büyük "pilot ölçekte" tutarlı, kesin ve tekrar üretilebilir olacak şekilde optimize edilir. En etkili yöntemler tanımlanır, "tohum dizisi" prosedürleri ve diğer protokoller geliştirilir ve parametreler tekrar tekrar optimize edilir.

b) Mikroorganizmaların çoğaltılması: Kültür ortamı, insanda toksik, alerjik veya diğer istenmeyen reaksiyonlara neden olduğu bilinen maddelerden mümkün olduğunca uzak olmalıdır. Bu tür bileşenlerin eklenmesi gerekli ise seri ürününü güvenli hale getirecek düzeye indirilmelidir. Aksi belirtilmedikçe ve izin verilmedikçe aşı final lotunun (serisinin) üretiminde, bir virüsün pasaj sayısının veya bir bakteri alt kültürünün sayısının, ana tohum serisinde gösterilen aşının üretimi için kullanılan sayıyı aşmaması gerekir. Hücre kültürlerinde üretilen aşılar için kontrol hücreleri, monograflarda tanımlandığı şekilde muhafaza edilir ve test edilir. Geçerli bir kontrol sağlamak için bu hücreler, aynı seri ortamların ve ortam değişikliklerinin kullanımı dahil

olmak üzere, üretim hücre kültürleri için kullanılanlara eş değer olan koşullarda muhafaza edilmelidir.

Bakterilerin çoğaltılmasında seri kültürü ve devamlı kültür olmak üzere 2 metot kullanılır. Seri kültürde mikrop kapalı bir kaptaki çoğaltılır. Devam eden kültür kemostat denilen bir kültür cihazı ile yapılır. Devamlı kültürde ise, taze besiyeri sabit bir hacimde sürekli olarak ortama ilave edilir ve aynı hacimde besiyeri sürekli olarak ortamdaki uzaklaştırılır. Bu sayede kültürün popülasyon yoğunluğu ve kültürdeki büyüme oranı kontrol edilir. Virüslerin çoğaltılmasında hücre kültürü, kuş embriyosu, canlı hayvan aşılması ve transgenik hayvan olmak üzere 4 metot kullanılır. Virüsün adaptasyonu aşamasında, primer hücre kültürlerinin veya canlı hayvanların kullanılmasına ihtiyaç duyulan durumlarda, virüsün elde edildiği hayvana özgü bulaşıcı hastalıklar yönünden temiz olduğu testlerle kanıtlanmış olmalıdır.

2) Aşağı Akış Prosesi

a) Mikroorganizmaların izolasyonu ve saflaştırılması: Ürün izolasyonu, özellikleri istenen üründen belirgin şekilde farklılık gösteren bileşenlerin çıkarılmasıdır. Saflaştırma, istenen ürünün ön-



ceden belirlenmiş spesifikasyonlarına göre en yüksek saflıkta seçici olarak ayrılması ve korunmasıdır. Saflaştırma yöntemi olarak sükröz gradyan santrifüj, kromatografi vb. yöntemler kullanılır.

b) Mikroorganizmaların inaktivasyonu: İnaktive edilmiş aşılarda, etkinliği ve tutarlılığı kanıtlanmış olan onaylanmış bir inaktivasyon işlemi kullanılarak üretilir. İnaktivasyon işleminin etkinliği için inaktivasyon işleminden sonra mümkün olan en kısa sürede bir test gerçekleştirilir. Virüs inaktivasyonu, virüsü ortadan kaldırmadan hücreleri enfekte etme yeteneğini ortadan kaldırmayı amaçlar. Viral zarfa veya kapside saldırarak ve hücrelere bulaşma veya etkileşme yeteneğini yok ederek ya da viral DNA veya RNA'yı bozarak ve replikasyonu önleyerek virüs inaktivasyonu sağlanır. Canlı zayıflatılmış aşılarda attenüasyon ile başka bir hayvandan alınan ilgili mikroorganizma kullanılır. Doğal olmayan bir yolla patojenik veya kısmen zayıflatılmış mikroorganizma uygulanır.

c) Aşıların formülasyonu: Aşıların formülasyonlarında temel olarak antijen (canlı zayıflatılmış, inaktive), adjuvan (mineral tuzlar, immun stimule edici kompleksler vb.), koruyucu ve stabilizörler (antibiyotikler, tiyomer-sal, fenoller, monosodyum glutamat vb.), inaktive edici ajanlar (formaldehit, β -propiolakton, glutaraldehit vb.), çözücü ve süspansiyon sıvıları (steril su, tuzlu su, yumurta proteinleri, maya proteinleri vb.) bulunur. Adjuvanlar; aşı antijenlerine karşı daha hızlı, uzun süreli ve yüksek bağışık yanıt olmasını sağlamak, gerekli antijen miktarını ve tekrar dozu sayısını azaltmak amacıyla aşı formülasyonuna

eklenen, kendileri immünojen olmayan, antijen harici maddelerdir.

Bir antijen için belirli bir adjuvanla elde edilmiş/artırılmış immün yanıt başka bir antijen için ekstrapole edilemez. Bu nedenle her aşıya uygun adjuvan, istenilen immün yanıtın tipine göre seçilmeli, optimal yanıt tipi ve en düşük yan etki görülecek şekilde antijen ile formüle edilmelidir. Uygun ve tutarlı olarak antijen - adjuvan birleşiminin, aşının raf ömrü boyunca stabilitesini koruduğu kanıtlanmalıdır. Antimikrobiyal koruyucular; aşıların kullanımı sırasında meydana gelen mikrobiyal kontaminasyonun neden olduğu bozulmayı veya yan etkileri önlemek için kullanılır. Antimikrobiyal koruyucu maddeler dondurularak kurutulmuş ürünlere ve tek dozlu sıvı preparatlara dahil edilmez. Çok dozlu sıvı preparatlar için etkili antimikrobiyal koruma ihtiyacı, muhtemel kontaminasyon süresince ve kabin açılmasından sonra tavsiye edilen maksimum kullanım süresi dikkate alınarak değerlendirilir. Antimikrobiyal koruyucular kılavuzlarda verilen limitlerde kullanılmalı ve limit içerisinde olduğu kanıtlanarak sunulmalıdır.

d) Kalite kontrol ve seri analizi: Üretimin tutarlılığı, aşı üretiminin önemli bir özelliğidir. İnsan kullanımı için aşılarda üretilen monograflar, üretim sırasında ve son seride gerçekleştirilen çeşitli testler için sınırlar getirir. Bu sınırlar, belirli bir değer etrafında maksimum değerler, minimum değerler veya minimum ve maksimum toleranslar şeklinde olabilir. Bu sınırlara uymak gerekli olsa da belirli bir aşı için üretim tutarlılığını sağlamak için yeterli değildir. İlgili testler için üretici, her ürün için, klinik olarak test

edilen ve üretim tutarlılığını göstermek amacıyla kullanılan gruplar için bulunan sonuçların göz önüne alınması amacıyla uygulanacak serbest bırakma sınırları veya limitlerini tanımlamalıdır. Bu limitler daha sonra üretim verileri ışığında istatistiksel bir temelde düzenlenebilir. Kalite spesifikasyonlarında özellikle kalitatif ve kantitatif kimyasal bileşim, adjuvan ve antijen arasındaki etkileşim, bakteriyel endotoksin içeriği ve mikrobiyolojik kalite dahil olmak üzere saflık ve işlevsellik için kritik olarak tanımlanan diğer parametrelerin kontrol edilmesi amaçlanır. Aşılarında ortak kalite kontrol ve seri analizinde temel olarak tanıma, saflık, potens, sterilite ve kararlılık testleri yapılır. Üretilen aşı şekline bağlı olarak ise virülans testleri (canlı aşılarda), interferans testleri (kombine aşılarda), nem miktar tayini (liyofilize aşılarda), pH testi, alüminyum testi, serbest formaldehit tayini, antimikrobiyal koruyucu testi ve çevreye risk değerlendirmesi (canlı aşılarda) testi gibi testler yapılır.

Aşı Üretimi Proses Validasyonunda Dikkat Edilmesi Gereken Noktalar

Aşı üretimi sürecinde yapılan değişikliklerin etki riski; düşük, orta ve yüksek risk olarak üçe ayrılır. Düşük risk grubundaki değişiklikler analitik verileri ve süreç verilerini etkiler. Örnek olarak kullanılan malzemelerin tedarikçisinde değişiklik ve ekipman yerinde değişiklik düşük risk grubundadır. Orta risk grubundaki değişiklikler analitik ve süreç verilerine ek olarak stabilite verilerini etkiler. Örnek olarak aynı üretim sürecinin yeni üretim tesisine taşınması, hücre kültürü değişikliği orta risk grubundadır. Yüksek risk grubundaki değişiklikler ise



analitik, süreç ve stabilite verilerine ek olarak prelinik ve klinik verileri de etkiler. Örnek olarak yeni hücre serisi ve formülasyonda majör değişiklikler yüksek risk grubundadır. Bu sebeplerle aşı üretiminde proses validasyonu yüksek öneme sahiptir. Yukarı akış ve aşağı akış proseslerinin ayrı ayrı değerlendirme ve doğrulanması yapılmalıdır.

1. Yukarı akış prosesinin değerlendirilmesi ve doğrulanması: Yukarı akış prosesinin işlem validasyonu üretim sürecinin başlamasından elde edilen son hasadın toplanmasına kadar hücre kültürünün adımlarının amaçlandığı gibi performans gösterebilmesinin değerlendirilmesi ve doğrulanmasını kapsar. Proses değerlendirme faaliyetleri, üretim sürecinin başlamasından, sonlandırma kriterleri ile tanımlanan PDL'ye ve/veya ötesine kadar hücre kültürü adımlarının, aşağı akış prosesi sonrası uygun kalitede bir etkin maddeyi sürekli olarak verebildiğini göstermelidir. Proses doğrulama faaliyetleri, proses parametreleri ve çalışma koşulları normal seri değerlerine uygun olduğunda, performans göstergelerinin ve kalite özelliklerinin tutarlılığının doğrulanmasına odaklanmalıdır. Bu çalışmalar hücre kültürü aşamalarını içermeli ve uygun sayıda ardışık çalışma ile yukarı akış prosesinin tamamını kapsamalıdır.

2. Aşağı akış prosesinin değerlendirilmesi ve doğrulanması: Aşağı akış proses, son hasattan sonraki ilk adımla başlar ve istenilen kalitede bir ürün üretilmesini sağlar. Aşağı akış prosesinde

ara ürün konsantrasyonu, hücre parçalanması (cell distribution), impürite klenzi ve proteinlerin yeniden katlanması veya ilgili proteine yönelik potansiyel modifikasyonlar için gerekli adımları içerebilir. Sıklıkla kromatografik yöntemler ve filtrasyon yöntemleri uygulanır. Önerilen saflaştırma prosedürlerinin istenen ürünü sağlama ve ürün ve işleme ilgili safsızlıkları (örneğin istenmeyen varyantlar, HCP'ler, nükleik asitler, ortam bileşenleri, virüsler ve proteinin modifikasyonunda kullanılan reaktifler) kabul edilebilir seviyelere çıkarma kapasitesi iyice değerlendirilmelidir. Doğrulama faaliyetleri, etkin maddenin ve proses ara ürünlerinin hedeflenen kalitesini tutarlı bir şekilde oluşturmak için tüm işlem sonrası prosesin amaçlanan performansını doğrulamalıdır. Bu proses parametreleri ve proses çıktıları proses içi test sonuçları ile desteklenmelidir.

Aşıların Stabilitesi

Saflik, dozaj şekli (liyofilize veya çözelti halinde olması), saklama koşulları (dondurulması ve düşük sıcaklığın etkisi) ve formülasyon bileşenleri (adjuvanlar, koruyucu maddeler, çözüldürücü ve stabilize edici maddeler vb.) aşıların stabilitesine etkisi olan faktörlerdendir. Örneğin; jelatin, tiyomersal, alüminyum hidroksit gibi stabilizörlerin ve boğmaca toksoidi, tetanoz toksoidi gibi diğer bileşenlerin varlığı aşıların stabilitesini etkilemektedir. Son kullanma tarihi potansiyelinin başlangıcından veya kombine bir aşı için ilk potansiyelinin başlangıcından itibaren hesaplanır. Stabilite

çalışmaları için kullanılan daha düşük bir sıcaklıkta depolanan ve yeniden analiz edilmeden serbest bırakılması amaçlanan aşılardan son kullanma tarihi, soğuk depodan çıkarılma tarihinden itibaren hesaplanır.

Kılavuzlara göre stabilite değerlendirilmesi: Sıcaklık, tüm aşıların özelliklerini zaman içinde etkileyen tek çevresel faktördür. Ancak yeni tip aşıların geliştirilmesinde diğer çevresel faktörler (ışık etkisi vb.) de göz önüne alınmalıdır. Fakat fotostabilite, aşı stabilite çalışmalarında zorunlu bir test olarak kabul edilmemektedir. Aşının raf ömrünün belirlenmesi için gerçek zamanlı/durumlu stabilite çalışması zorunludur. Saklama koşullarından daha yüksek sıcaklıklar (hızlandırılmış stabilite çalışmaları) ise aşı stabilite çalışmalarında zorunlu değildir. Sadece aşının stabilite profilini oluşturmak için kullanılabilir. 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.

Stabilite testleri:

- Gerçek zamanlı/gerçek durum stabilite çalışmaları
- Hızlandırılmış stabilite çalışmaları
- Stres testleri
- Kullanım dönemi için stabilite çalışmaları

- Destekleyici stabilite çalışmaları
- Ambalaj ve kapatma sisteminin etkisi (Ekstre edilebilir madde/sızıntı testleri)
- Etiketli saklama koşulları dışında bilinen "kısa süreli buzdolabı dışına alınma" durumunda bir aşının stabilitesi (ICH Q5C,1995).

Sonuç

Aşılar, ilaç kategorisinde değerlendirilen ürünlerdir. İlaçlardan farklı olarak tedavi edici değil, koruyucudurlar. Aşı araştırmaları, etik kurulların uygun bulması halinde, ülkelerin yerel sağlık otoriteleri tarafından kontrol edilir. Yerel sağlık otoriteleri, aşılar pazara sunulmadan önce, araştırma-geliştirme aşamasından üretimin son aşamasına kadar her bir basamağa ait verileri ve etik kurallara uygunluğunu inceler, değerlendirir ve gerektiğinde açıklama talep eder. Ülkemizde bu görevi Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu (TİTCK) yürütmektedir. Süreçlerin ne ölçüde şeffaf ve açıklanabilir olduğu aşıya güvenilirliliğin bir ölçüsüdür. Aşıların sağlıklı bireylere, özellikle çocuklara uygulanması sebebiyle ruhsatlandırma süreci çok daha hassas yürütülmektedir.

Aşı geliştirme çalışmalarında ülkemizin de 2020 yılında tam üyesi olduğu Uluslararası Harmonizasyon Konseyinin (ICH) kılavuzlarına uyum durumu, aşı geliştirme süreçlerinde güvence sağlamıştır. Bir aşının araştırma-geliştirme aşamasından pazara sunulması aşamasına geçişi, etkinlik ve güvenliliğinin ispat edilmesi ile gerçekleşir. Aşı araştırmaları temel araştırma ve klinik araştırma olarak iki aşamalıdır ve klinik araştırma süreci insan katılımlıdır.

Aşı sektörü yüksek araştırma ve geliştirme (Ar-Ge) potansiyeline ve pazarda giderek artan rekabete sahip küresel bir endüstridir. Farmakoekonomi, denetim (GMP-GLP) ve klinik araştırma sürecinin insan katılımlı olması, aşı/ilaç sektörü Ar-Ge'sini diğer sektörlerden ayırmaktadır.

Aşı sektörü kamu, özel sektör, üniversiteler, araştırma merkezleri ve girişimcilerden oluşan geniş bir Ar-Ge ekosistemidir. Ülkemizde etkin bir aşı Ar-Ge ekosistemi oluşturulması, bu ekosistem içindeki paydaşlar arasında güçlü bir iletişim ağı kurulması ve bu alanda yetişmiş nitelikli insan gücü artırılıp yeni fikirler ortaya çıkarılarak sağlanabilir. Aşı endüstrisinde kullanılan biyoteknoloji ve

nanoteknoloji yöntemleri günümüzün devrim yaratan/yaratacak teknolojileri arasında görülmektedir.

Şiddetli akut solunum sendromu SARS-CoV-2'nin neden olduğu COVID-19 pandemisi giderek artan sayıda ülkede milyonlarca insanın risk altında olduğu ciddi bir halk sağlığı tehdidi oluşturmuştur. DSÖ (Dünya Sağlık Örgütü) Ekim 2021 verilerine göre COVID-19 salgını sebebiyle 240 milyondan fazla vaka, 5 milyona yakın ölüm meydana gelmiştir. COVID-19 salgınına karşı toplumsal bağlılığı sağlamak ve SARS-CoV-2'nin yayılmasını kontrol etmek amaçlı, etkili, güvenli ve uzun süre koruyucu bir aşı geliştirmek için dünya genelinde yoğun çabalar sarf edilmiştir.

COVID-19 salgını ile başlayan aşı geliştirme yarışına ülkemiz de klinik çalışmaları devam eden yerli aşılar ile dahil olmuştur. Yerli inaktif aşı olan TURKOVAC aşısına 17.12.2021 tarihinde Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu tarafından acil kullanım onayı verilmiştir. COVID-19 salgını ile üniversitelerde ve endüstride aşı Ar-Ge çalışmalarına daha çok ağırlık verilerek, bu alanda uzman insan kaynağının yetiştirilmesi tüm dünyada ve ülkemizde temel hedef olmuştur. Ülkemizin de öncelikli araştırma alanlarından olan aşı üretim teknolojilerinde üniversite, sanayi ve kamu iş birliğinin temelleri oluşturulmaya başlanmıştır ve en kısa zamanda yerli aşı sayısının giderek artırılması amaçlanmaktadır.

Kaynaklar

- Abbas, A.K., Litchman, A.H. (2003) *Cellular and Molecular Immunology*. 5th Ed. USA: Elsevier.
- Avrupa Farmakopesi 10 (EP10) (2019), *Cell Substrates For The Production of Vaccines for Human Use*.
- Avrupa Farmakopesi 10 (EP10) (2019), *Vaccines for Human Use*.
- Beyazova, U., Aktaş, F., (2007). *Çocukluk Çağı Aşılama ve Erişkin Bağışıklaması*. Gazi Medical Journal; 18(2):47-65.
- Bozkır A., Ayçiçek S. (2021) *Güncel Bakış Açısı ile Aşı Teknolojisi*. Türk Eczacıları Birliği Yayını, Meslek İçi Sürekli Eğitim Dergisi (MİSED), 47-48:17-33.
- Bozkır, A., & Saka, O. M. (2007). *Multiple Emulsions: Delivery System for Antigens*. *Multiple Emulsions*, 293-306.
- Bozkır, A., & Hayta, G. (2004). *Preparation and Evaluation of Multiple Emulsions Water-in-Oil-in-Water (w/o/w) as Delivery System for Influenza Virus Antigens*. *Journal of Drug Targeting*, 12(3), 157-164.
- Bozkır, A., Hayta, G., & Saka, O. M. (2004). *Comparison of Biodegradable Nanoparticles and Multiple Emulsions (Water-in-Oil-in-Water) Containing Influenza Virus Antigen on the In Vivo Immune Response in Rats*. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 59(9), 723-725.

Demirtaş A., Buzkaya H., Derici M.K., Aşı: Akademik, Endüstriyel ve Resmi Otorite Yönüyle, 2019; (10):83-98.

Donnelly, J. J., Liu, M. A., Ulmer, J. B., Shiver, J. W. (1997). *DNA Vaccines*. *Annu. Rev. Immunol*, 15: 617-648.

European Medicines Agency. (2014). *Guideline on Process Validation for the Manufacture of Biotechnology Derived Active Substances and Data to Be Provided in the Regulatory Submission Draft*.

Hibbs Bf, Moro Pl, Lewis P, Miller Er, Shimabukuro Tt. *Vaccination Errors Reported to the Vaccine Adverse Event Reporting System, (VAERS) United States 2000-2013*. *Vaccine*, 2015; 33(28): 3171-8. ICH Q5C: *Stability Testing of Biotechnological/Biological products, Annex to the Tripartite ICH Guideline for Stability of New Drug Substance and Products*, 1995. <https://www.ema.europa.eu/en/ich-q5c-stability-testing-biotechnologicalbiological-products> (Erişim Tarihi: 19.10.2021).

Jameel, F., & Hershenson, S. (Eds.). (2010). *Formulation and Process Development Strategies for Manufacturing Biopharmaceuticals*. John Wiley & Sons.

J. Zhang, H. Zeng, J. Gu, H. Li, L. Zheng, Q. ZOU *Progress and Prospects on Vaccine Development Against SARS-CoV-2 Vaccines*, 8(2), p.153, 10.3390/vaccines8020153.

Klegerman, M.E. (1992) *Vaccines*. *Pharmaceutical Biotechnology*. Interpharm Press., p.64-76.

Küçüktürkmen, B., & Bozkır, A. (2018) *Özel Saklama Koşulu Gerektiren veya Soğuk Zincire Tabi İlaçlar ve Uygulamalar Açısından Değerlendirmeler*. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 75(3):305-322.

Marciani, D. J. (2003). *Vaccine Adjuvants: Role and Mechanisms of Action in Vaccine Immunogenicity*. *Drug Discovery Today*, 8(20): 934-943.

Ozbigün, N. D., Saka, O. M., & BOZKIR, A. (2014). *Preparation and In Vitro/In Vivo Evaluation of Mucosal Adjuvant in Situ Forming Gels with Diphtheria Toxoid*. *Drug Delivery*, 21(2), 140-147.

Öner, F., Eratalay, A. (2001) *Aşılar ve Adjuvanlar*. *J. Pharm. Sci.*, 25:21-33.

Pehlivan T., Altınel S. (2009) *Aşılar Tüm Bilmek İstedikleriniz* (2.baskı). Sanofi Pasteur Aşı Tic. A.Ş.

Plotkin, S. A., Orenstein, W., Offit, P.A., & Edwards, K. M. (2017). *Vaccines E-Book*. Elsevier Health Sciences.

Rathore, A. S., & Sofer, G. (Eds.). (2012). *Process Validation in Manufacturing of Biopharmaceuticals*. CRC Press.

Spies, I. D., Alpar, H. O., Eyles, J. E., Bozkır, A., Miller, J., & Williamson, E. D. (1999). *Studies on the Co-encapsulation, Release and Integrity of Two Subunit Antigens: rV and rF1 from Yersinia Pestis*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 51(9), 991-997.

Türk Farmakopesi (2019), *Beşerî Aşılar*.

Türk Farmakopesi (2017), *Beşerî Aşıların Üretiminde Kullanılacak Hücre Substratları*.

WHO Technical Report Series: No. 908, Annex 9, 2003. http://www.who.int/medicines/areas/quality_safety/quality_assurance/GuideGoodStoragePracticesTRS908Annex9.pdf (Erişim Tarihi: 19.10.2021).

WHO Guidelines on Non-Clinical Evaluation of Vaccines, WHO Technical Report Series No. 927, Annex 1. Internet adresi: <https://www.who.int/teams/health-product-policy-and-standards/standards-and-specifications/vaccine-standardization/non-clinical-evaluation-of-vaccines>. (Erişim Tarihi: 01.12.2021).

WHO Guidelines on the Non-Clinical Evaluation of Vaccine Adjuvants and Adjuvanted Vaccines, Annex 2, TRS No 987. <https://www.who.int/publications/m/item/nonclinical-evaluation-of-vaccine-adjuvants-and-adjuvanted-vaccines-annex-2-trs-no-987>. (Erişim Tarihi: 01.12.2021).