



ANKARA ÜNİVERSİTESİ
Cumhuriyet'in İlk Üniversitesi

Zoonotik Enfeksiyonların Dinamiği ve Profilaktik Yaklaşımlar

Aykut ÖZKUL



Ankara Üniversitesi
Biyoteknoloji Enstitüsü
Veteriner Fakültesi, Viroloji ABD
Viral Zoonozlar İleri Araştırma ve Tanı Lab - AVZAL



İçerik

- Virüsler
 - Doğa-hayvan-insan üçgeninde nedenler/niçinler...
- Birlikten güç doğar (Tek Sağlık)
- Biyogüvenlik alt yapıları, AVZAL örneği
- KKKA örneğinde profilaksi (aşı) çalışmaları,

SCIENCE | THE LOOM

Mammals Made By Viruses

BY CARL ZIMMER

PUBLISHED FEBRUARY 15, 2012 • 6 MIN READ

National Geographic



- Virüsler, yüz milyonlarca yıldır memelilerin genomuna kendi genlerini yerleştiriyorlar.
- Genellikle eşey hücrelerini enfekte ederek, kendi DNA'larını konak DNA'larına sokarak yaparlar.
- İnsan genomunda, bilinen 100.000 virüs gen/gen parçası bulunmakta.
- DNA'mızın %8'inden fazlasını oluşturuyor.

Yeni Oluşan Enfeksiyöz Hastalıklar (Emerging Infectious Disease-EID)

- Emerging Infectious Disease
 - ✓ Bir popülasyonda yeni olarak gözlemlenen veya indisans ya da coğrafi sınırları hızla değişen (artan) enfeksiyöz hastalık.
- Ortalama olarak son 30 yıl içinde her yıl yeni bir hastalık tanımlanıyor. (DSÖ)

ZOONOTIC DISEASES

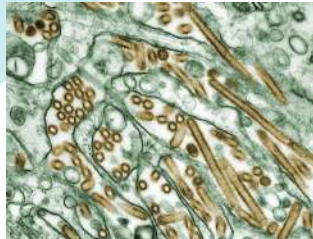
spread BETWEEN animals and people



- Yeni Oluşan Enfeksiyöz Hastalıkların (EİH) yaklaşık %75 zoonoz niteliklidir. (DSÖ)



Avian Influenza Virus



Ebola Virus



Anthrax



Zoonoz (Viral)

- Zoonotik Hastalık:
İnsan ve hayvan popölasyonları arasında geçişebilen hastalıklardır.



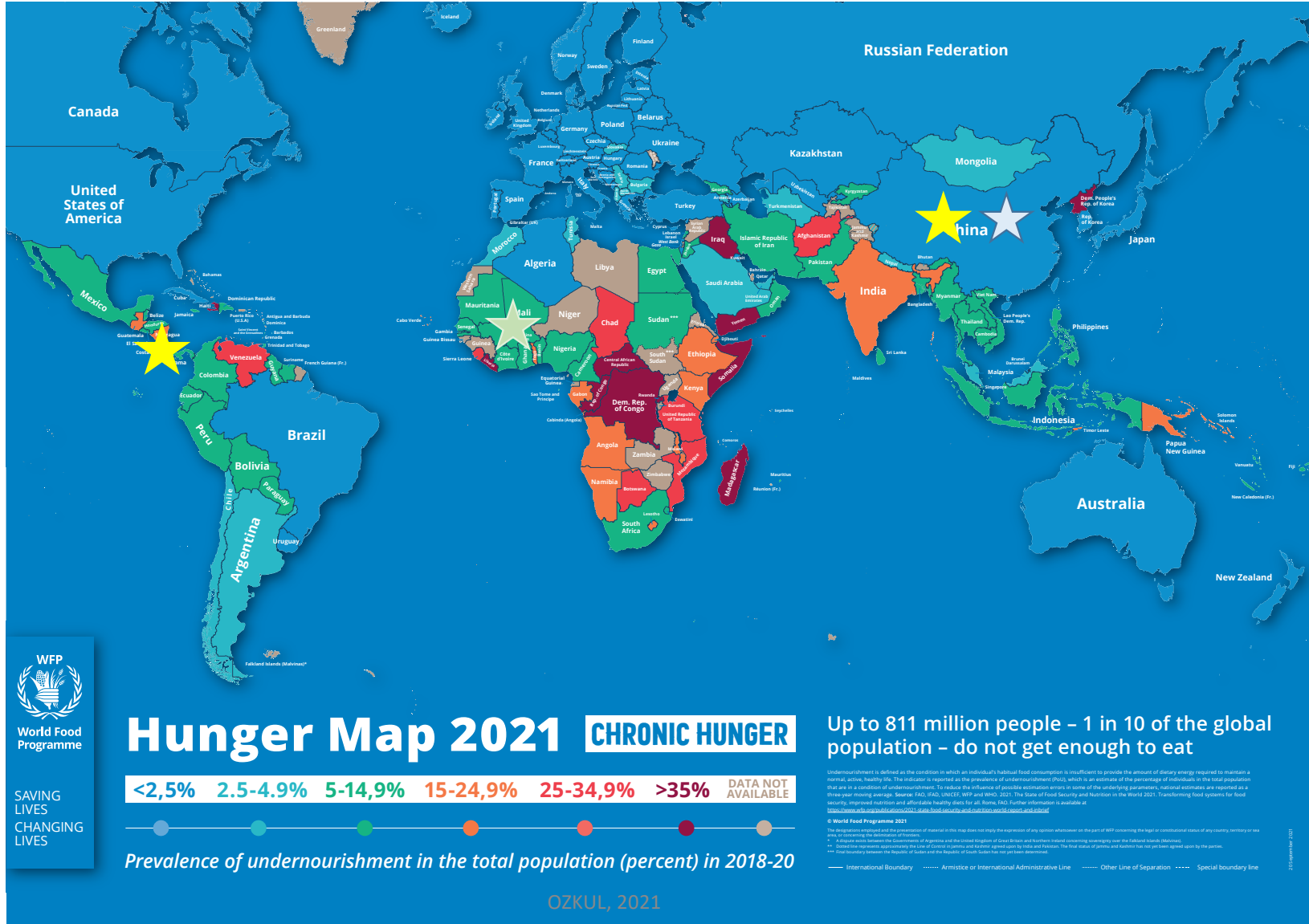
- >250 den fazla tanımlı zoonoz
- 61 yarasa kökenli
- 68 kemirgen kökenli

- Avian Influenza
- Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS)
- Monkeypox virus
- Rabies virus
- AIDS
- Ebola virus
- West Nile virus
- Nipah virus
- Crimean Congo Hemorrhagic Fever (CCHF)
- Middle East Respiratory Syndrome (MERS)
- COVID-2019

Yapılan bir çalışmada - *Nature*

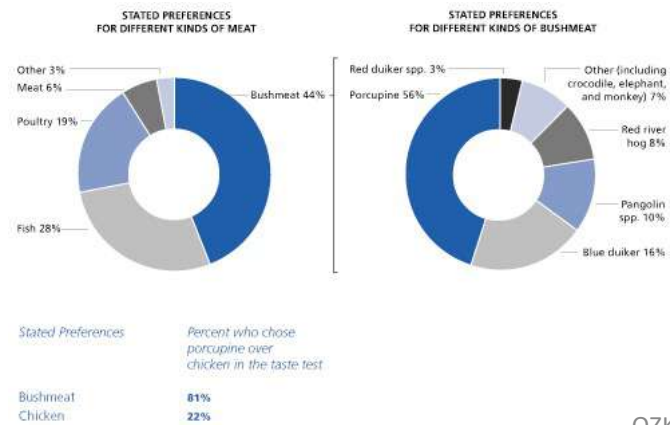
- 1940 ve 2004 yılları arasında 335 adet Yeni Oluşan Enfeksiyöz Hastalık (EID) tanımlanmıştır.
 - ✓ Hastalık çıkışları ile artan popülasyon yoğunluğu arasında pozitif ilişki bulunmuştur.
 - ✓ En yüksek frekanslar US/Avrupa hastalık çıkışlarında bildirilmiştir... (????)
 - ✓ %60.3 zoonozdur
 - ✓ %71.8 yaban hayat kaynaklıdır.

AÇLIK HARİTSİ 2021



İnsan – Evcil - Yaban Hayat Kesişimleri

- Bushmeat Ticareti



İnsan – Evcil – Yaban Hayat Kesişimleri

- Wet Markets



Yüksek riskli arayüzler



OZKUL, 2021

Yüksek riskli arayüzler



OZKUL, 2021

 World Health Organization

Health Topics ▾ Countries ▾ Newsroom ▾ Emergencies ▾ Data ▾ About Us ▾

[Blueprint](#)
[About](#)
▸ [What the Blueprint does](#)
▸ [Priority diseases](#)
[Meetings and events](#)

Pierre Formenty

Global public health, WHO

Biography

Dr. Pierre Formenty is a Doctor in Veterinary Medicine with a Master in Public Health. He has been working in global public health with the World Health Organization (WHO) since January 1996.

During the Ebola crisis in West Africa, Dr Formenty has been assign to the HQ Ebola Response department, where he was leading the Technical Strategy, Support & Standards Team (technical supervision of 7 teams, 70 staffs).

Within the new WHO Health Emergency programme he is leading the Viral and Haemorrhagic Fever team (VHF). The VHF team is responsible for global prevention, preparedness and response to Viral Haemorrhagic Fever outbreaks of international public health concern. Dr Formenty and his team are covering VHF and several viral emerging zoonotic infections: Ebola, Marburg, Rift valley fever, Crimean-Congo haemorrhagic fever, Lassa fever and Arenaviruses, Monkeypox, Hantavirus, West Nile Virus Nipah and Hendra. In addition, their research interest include ecological studies on emerging zoonosis at the human-animal interface, viral haemorrhagic fevers, vector borne forecasting models and climate change.

Dr Formenty is the Manager of the WHO Emerging and Dangerous Pathogens Laboratory Network (EDPLN), a Network of high security diagnostic laboratories for early detection and rapid containment of outbreaks due to emerging and dangerous pathogens (see link below). EDPLN is functioning in coordination with the Global Outbreak Alert and Response Network (GOARN). EDPLN is a network of high security diagnostic laboratories able and willing to collaborate and share their knowledge, biological materials and experimental research results in a real time framework to detect, diagnose and control novel disease threats.



Tek Sağlık Yaklaşımı!

- içinde bulunduğumuz dünya, duyarlılığı yükselen toplumlardan oluşuyor.
- Etrafımızdaki olumsuzluklara kayıtsız kalamıyoruz.
- Müdehale etme gerekliliği, farklı disiplinlerdeki uzmanları bir araya getiriyor.

Viral Zoonozlar İleri Araştırmalar ve Tanı Laboratuvarı (AVZAL) - Amaç

- Zoonoz nitelikli (öncelikli olarak) arboviral enfeksiyonların araştırılması
 - Saha taramaları (insan, hayvan ve vektör temeli)
 - Moleküler Epidemiyoloji
 - Tanısal Sistemler
 - Koruma ve tedavi hedefli yeni nesil virus/antikor araştırmaları
- İnsan gücü yetiştirmek
 - YÖK 100/2000 Programı (4 kişi)
 - TÜBİTAK 2244 Programı (1 kişi)
 - TÜBİTAK 2236 Programı (2 kişi)



AVZAL, BSL-2 ve BSL-3 Altyapısı



2013 Yılı İhale Bedeli
3.9M TL

BSL-3 ve ABSL-3 Laboratuvarları



BSL-3 Lab-1



BSL-3 Lab-2



BSL-3 Main Hall, Storage
and Cold room



Pass-through Autoclave

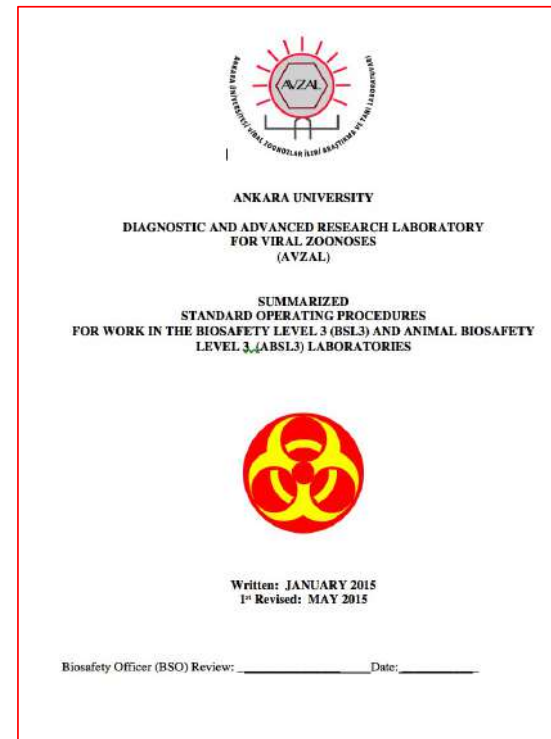


BSC-3 Biosafety Workstation



ABSL-3 IVC rocks and
Change station

BSL-3/ABSL-3 Sertifikasyon ve SOP'ler



Address: Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,
Viroloji Anabilim Dalı Başkanlığı,
İrfan Bastug Cad. Diskapi, Ankara - 06110 Turkey

Phone : +90 312 3170315 Ext: 4222, 4364

Fax : +90 312 316 4472

E-mail : ozkul@ankara.edu.tr

Çalışma Alanları

- Aşı Çalışmaları
 - Rekombinant Virüsler
 - Kimerik Virüsler
 - İmmünizasyon rejimleri
- Monoklonal Antikor Üretimi Çalışmaları

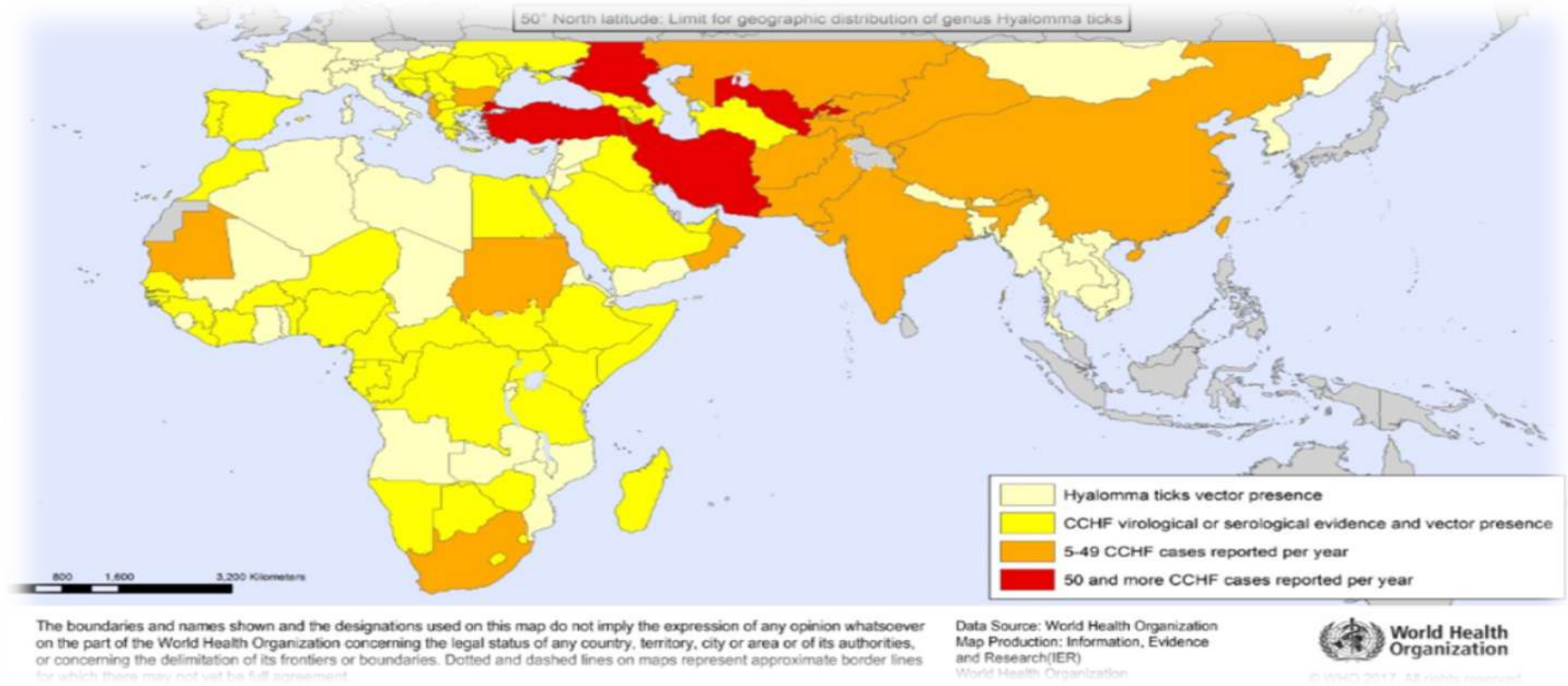


HASTALIK – Kırım Kongo Kanamalı Ateşı



Kırım Kongo Kanamalı Ateşı (CCHF) kene ile geçen bir viral enfeksiyondur ve endemik yerlerde ölümcül ölümcül olabilen hastalık tablosuna neden olmaktadır.

KIRIM KONGO KANAMALI ATEŞİ COĞRAFI DAĞILIM HARİTASI

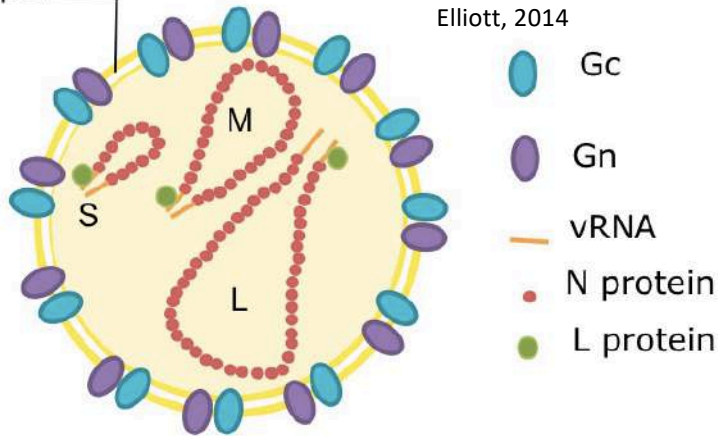


Türkiye, Kırım Kongo kanamalı ateşinin en sık görüldüğü ülkeler arasında bulunmaktadır.

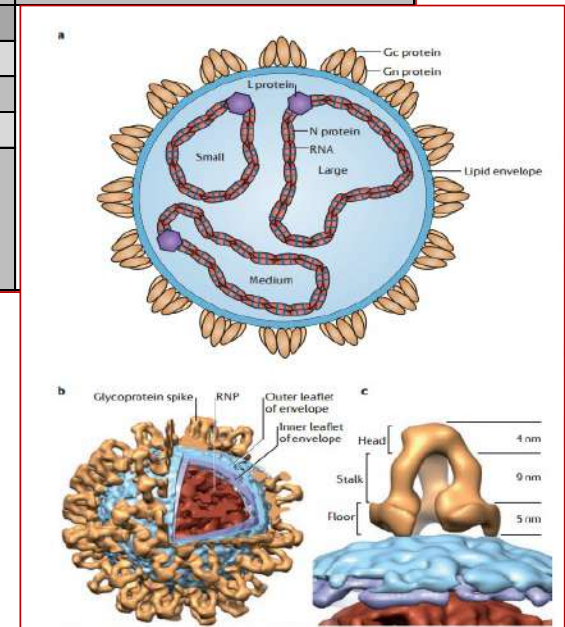
Virüs Yapısı

Virion	Hantavirus	Nairovirus	Orthobunyavirus
Morphology:	Pleomorphic with either spherical or rod-shaped particles	Spherical	Spherical, non-icosahedral
Envelope:	yes	yes	yes
Diameter [nm]:	80–120	90–105	80–120
Additional information:	Square grid-like appearance, fourfold symmetry	Small surface structures with central cavities	tripod-like arrangement
Virion	Phlebovirus	Tospovirus	
Morphology:	Icosahedral and pleomorphic	Spherical	
Envelope:	Yes	yes	
Diameter [nm]:	80–120	80–120	
Additional information:	T-12 icosahedral lattice, pH-dependent conformations	Small surface structures with central cavities	

Lipid envelope



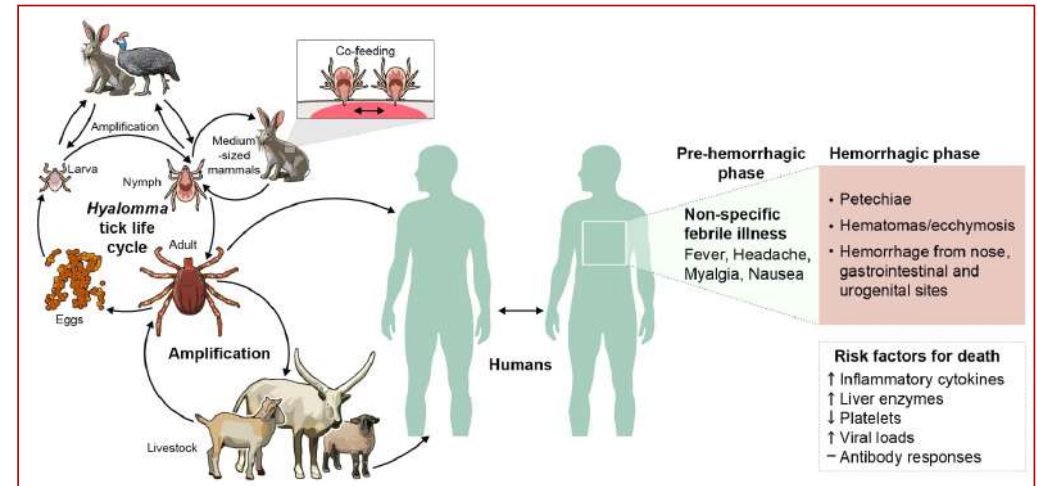
Elliott, 2014



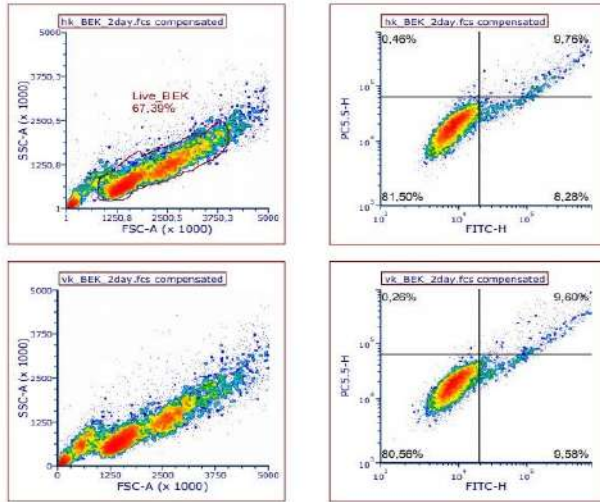
OZKUL, 2021

Epidemiyoloji - Bulaşma

- Hyalomma spp keneler tarafından bulaştırılıyor.
- Ayrıca hastalığın insandan insana bulaşma potansiyeli bulunmaktadır.
- Kuluçka süresi ise konakçıya, enfeksiyon yoluna ve viral doza bağlı olarak değişmektedir.

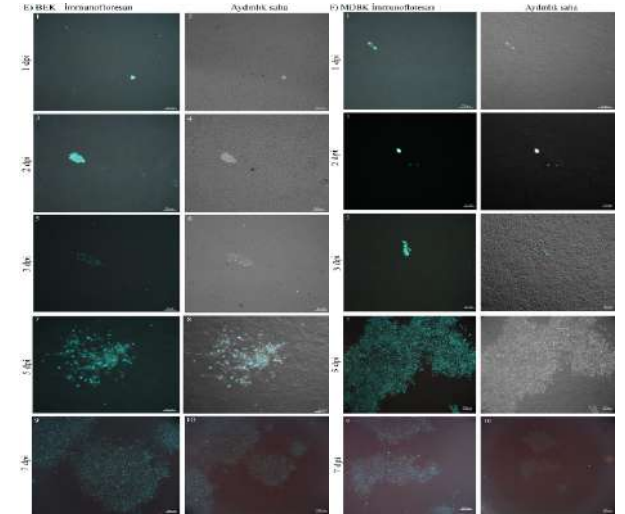


Kırım-Kongo Kanamalı Ateş Virusunun İnsan ve Hayvan Kaynaklı Hücre Kültürlerinde MicroRNA Yolaklarıyla İlgili Anahtar Protein Ekspresyonu



Doktora Tezi
KATALIN FÖLDES

Danışman: Prof. Dr Aykut Özkul
14.06.2021



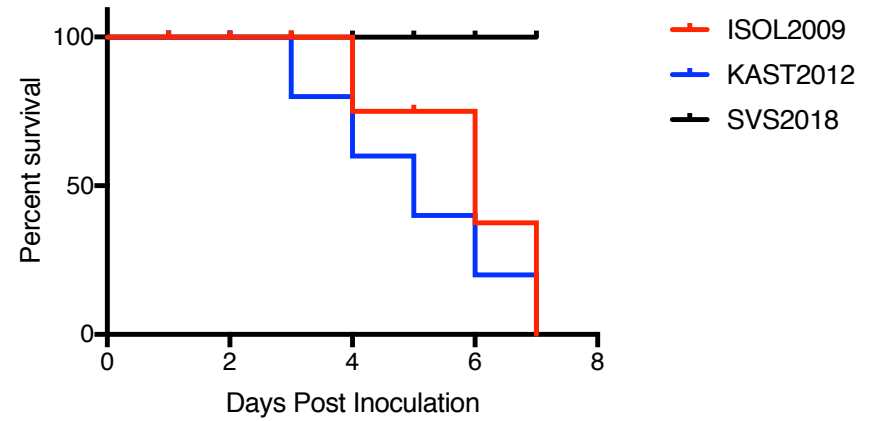
KKKA salgınları yüksek ölüm riski (%10-40) barındırdığı, hastane sağlık tesisi salgınlarına neden olduğu, tedavisi ve önlenmesi güç olduğu ve en önemlisi epidemik olabileceği için halk sağlığı açısından ciddi bir tehdit oluşturmaktadır.



3 dpi



5 dpi



Spesifik Tedavisi Yok!

- Ribavirin
 - Etkin
 - Şarta bağlı etkin
 - Etkisiz
- Favipiravir (T-705)
- Chloroquine, chlorpromazine
- Yeni Ajanlar
 - 2-deoksi-2-florositidin
 - Subtilisin kexin isozyme-1/site-1 protease (SKI-1/S1P)

International Journal of Infectious Diseases 17 (2013) e799–e801



Contents lists available at [SciVerse ScienceDirect](#)

International Journal of Infectious Diseases

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ijid



Perspective

Ribavirin is not effective against Crimean–Congo hemorrhagic fever: observations from the Turkish experience[☆]

Antiviral Research 147 (2017) 91–99



Bahadır Ceylan, Ay
Faculty of Medicine, Departmen



Contents lists available at [ScienceDirect](#)

Antiviral Research

journal homepage: www.elsevier.com/locate/antiviral



Identification of 2'-deoxy-2'-fluorocytidine as a potent inhibitor of Crimean–Congo hemorrhagic fever virus replication using a recombinant fluorescent reporter virus

Stephen R. Welch, Florine E.M. Scholte, Mike Flint, Payel Chatterjee, Stuart T. Nichol, Éric Bergeron, Christina F. Spiropoulou^{*}

Viral Special Pathogens Branch, Division of High-Consequence Pathogens and Pathology, National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases, Centers for Disease Control and Prevention, 1600 Clifton Road, MS G-14, Atlanta, GA, 30329, USA



KORUNMA - AŞI



Geçmişten Günümüze Kırım Kongo Kanamalı Ateşi Aşı Denemeleri

Aşı Tip	İçerik	Bağışıklık		Prelinik Koruyuculuk	Güvenlik	Üretim Kolaylığı	Kaynak
		Antikor	T-hücre				
İnaktif Virüs (Beyin)	Virüs	+	+	?	?	X	
İnaktif Virüs (HK)	Virüs	+	TE	80%	?	X	Canakoglu ve ark, 2015
MVA	M Segment	+	+	100%	+	+	Buttigieg ve ark, 2014
	S Segment	+	+	TE	+	+	Dowall ve ark, 2016
Adenovirüs	M Segment	+	+	TE	+	+	Sahib, 2010
	S Segment	+	+	80%	+	+	Zivcec ve ark, 2018
DNA Aşısı	M Segment	+	TE	TE	+	+	Spik ve ark, 2006
	Gn, Gc, NP	+	+	100%	+	+	Hinkula ve ark, 2017
Protein Aşısı	Gn GP	+	TE	X	?	+	Kortekaas ve ark, 2015
	Gc GP	+	TE	X	?	+	
VLP	Gn, Gc, NP	+	+	40%	+	+	Hinkula ve ark, 2017
Transjenik Bitki	GP	+	TE	TE	?	+	Ghiasi ve ark, 2011

+: Tespit edildi

?: Belirsiz

X: Tespit edilmedi

TE: Test edilmesi

Önemi gün geçtikçe artıyor - EU

- Bugüne kadar ki en büyük aşı araştırmaları platformu.
 - İsveç, Karolinska Enstitüsü, liderliğinde EU lider ülkeleri, UK, Türkiye, Tacikistan, USA
 - Hedef
 - Her türlü İnsan aşısı
 - Hayvan
 - Toplam Bütçesi → 6 M €
- <http://www.cchfvaccine.eu/>

CRIMEAN CONGO HEMORRHAGIC FEVER VIRUS

[CLICK HERE TO SEE MORE](#)

WELCOME TO THE OFFICIAL CCHFVACCINE WEBSITE

We hope that you can find here all information you need about our H2020 supported programme CCHFVaccine, aiming at increasing European capacity to control the situation of Crimean Congo Hemorrhagic fever disease on a global basis by developing and deliver a vaccine.

[CONTACT US FOR ANY ADDITIONAL QUESTION](#)

[ABOUT US](#)

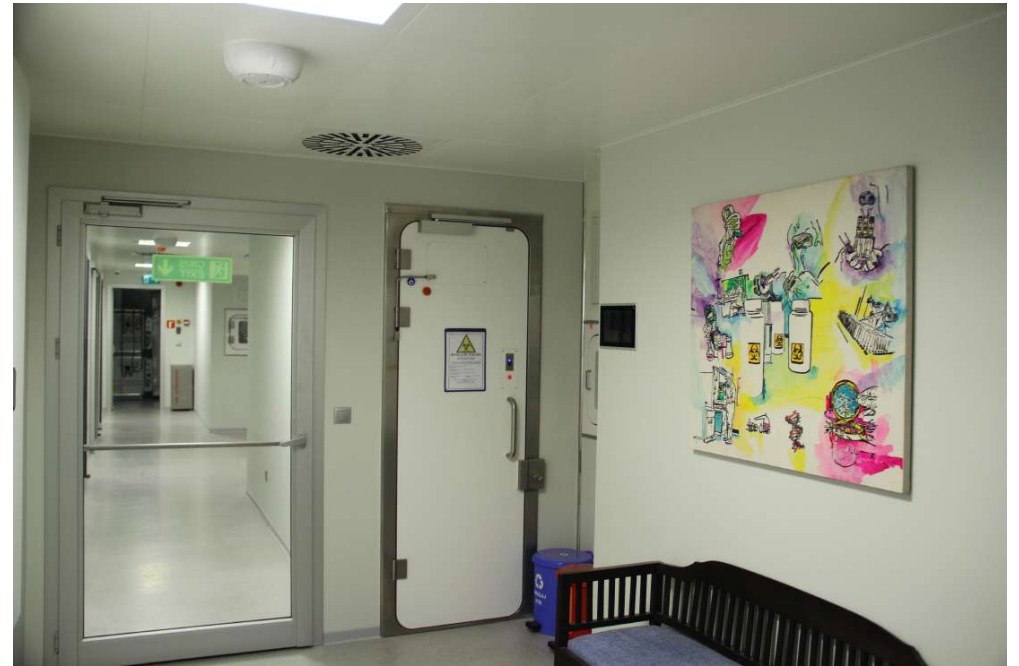
[OBJECTIVES](#)

OZKUL, 2021

[LATEST NEWS](#)

Vektör Platform'lar

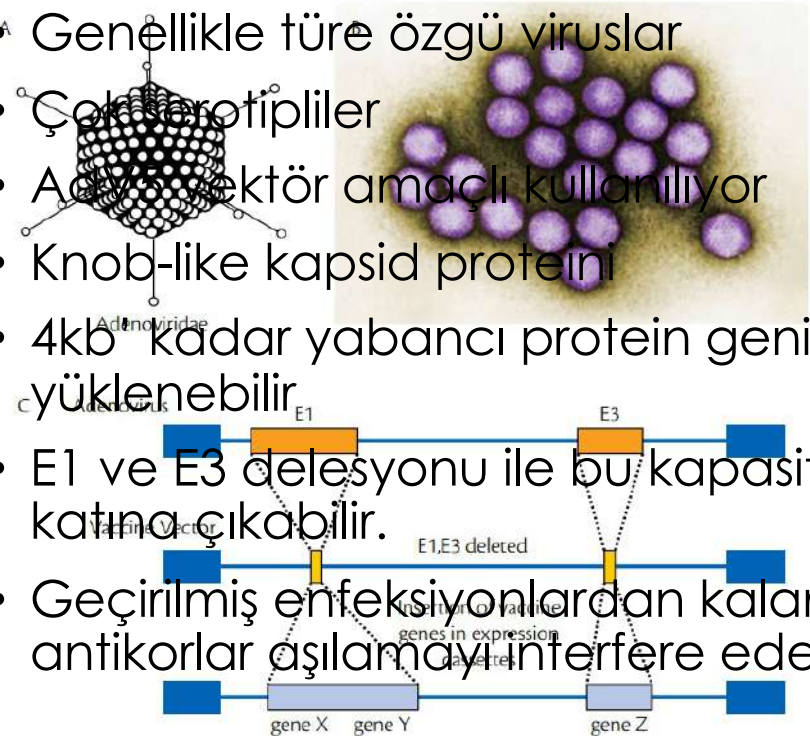
- Adenovirus – CCHFV-N
- BHV-4 – CCHFV-N
- MVA – CCHFV-N



Vektör Platform'lar

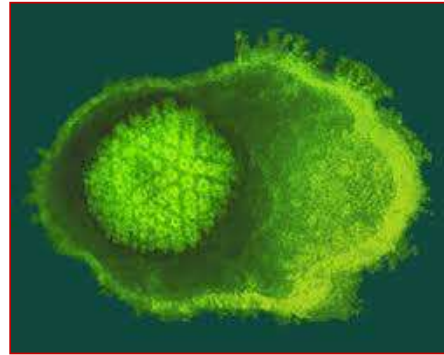
- Adenovirus – CCHFV-N
- BHV-4 – CCHFV-N
- MVA – CCHFV-N

- Genellikle türe özgü viruslar
- Çok serotipliler
- Adenovirüs vektör amaçlı kullanılıyor
- Knob-like kapsid protein
- 4kb kadar yabancı protein geni yüklenebilir
- E1 ve E3 delesyonu ile bu kapasite iki katına çıkabilir.
- Geçirilmiş enfeksiyonlardan kalan antikorlar aşılamayı interfere edebilir.



Vektör Platform'lar

- Adenovirus – CCHFV-N
- **BHV-4 – CCHFV-N**
- MVA – CCHFV-N



- BHV-4'ün in vivo insanlara bulaşma potansiyeli belirsizdir ve virüs manipülasyonu için uluslararası biyogüvenlik düzenlemeleri Biyogüvenlik seviyesi (BSL) 2 grubunda kategorize edilmiştir (Gillet ve ark, 2005).
- İki ana referans suş, DN599 (Amerikan suşu) ve Movar (Avrupa suşu) karakterize edilmiştir (Lin ve ark, 2007). BHV4, hücre kültüründe kolay yayılımı, diğer gama herpesvirüslerine göre nispeten basit genom, hedef gen yerleştirme için büyük kapasite, hayvan modelinin bulunabilirliği (tavşan) ve belgelenmiş hücre transformasyonunun olmaması nedeniyle yeni bir herpesviral vektör olarak araştırılmıştır (Donofrio ve ark, 2007).
- Son zamanlarda aşı geliştirme ve kanser tedavisi deneylerinde bir vektör olarak dikkat çekmiştir (Redaelli ve ark, 2010). EVD aşı adayı geliştirildi.

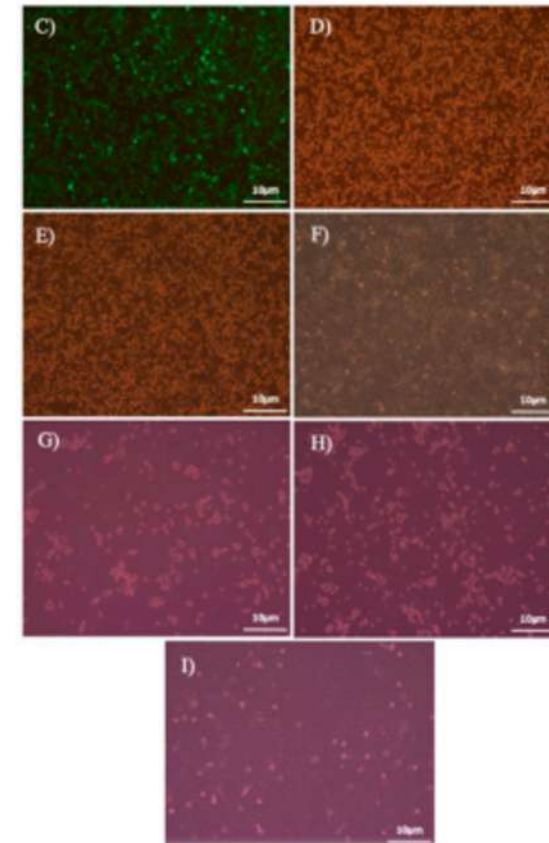
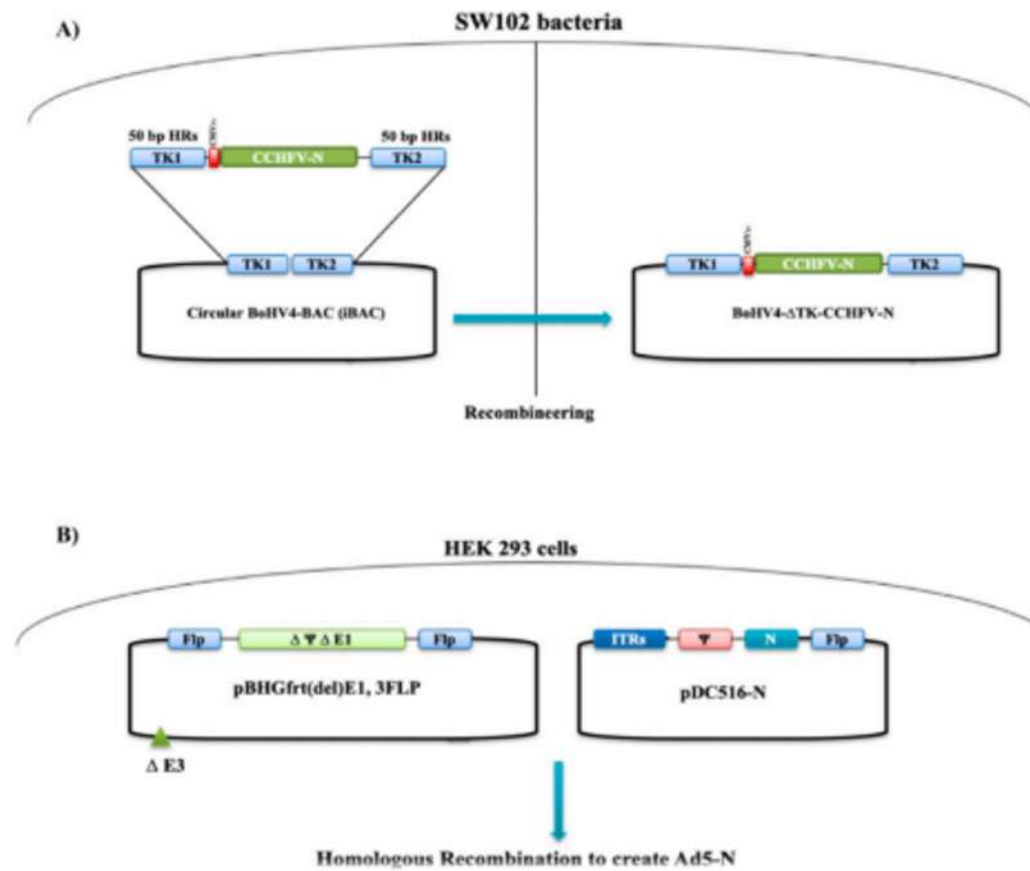
Article

Bovine Herpesvirus Type 4 (BoHV-4) Vector Delivering Nucleocapsid Protein of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus Induces Comparable Protective Immunity against Lethal Challenge in IFN α / β / γ R $^{-/-}$ Mice Models

Touraj Aligholipour Farzani ¹, Katalin Földes ¹, Alireza Hanifehnezhad ¹, Burcu Yener Ilce ², Seval Bilge Dagalp ¹, Neda Amirzadeh Khiabani ², Koray Ergünay ³, Feray Alkan ¹, Taner Karaoglu ¹, Hurrem Bodur ⁴ and Aykut Ozkul ^{1,2,*}

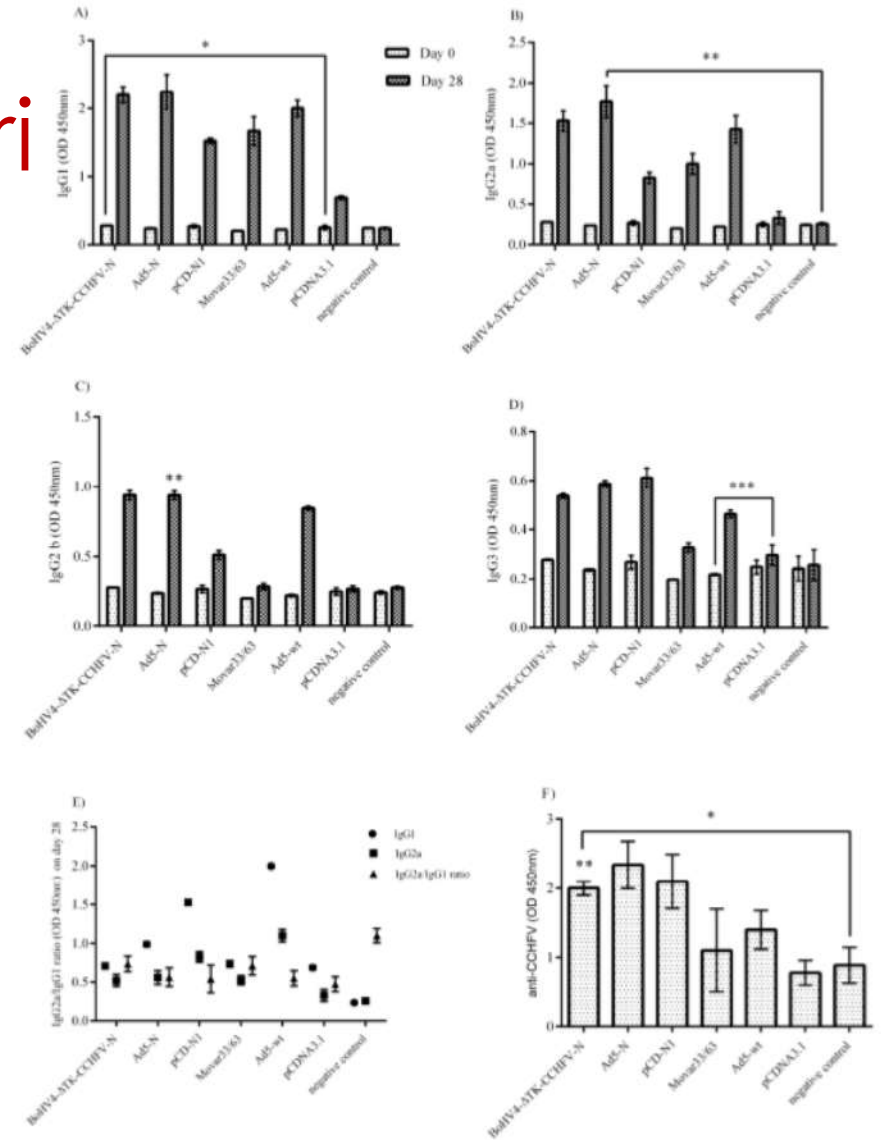
Viruses **2019**, *11*, 237; doi:10.3390/v11030237

Sığır herpesvirüsü tip 4 (BoHV-4) temelli viral vektörü (BoHV4- Δ TK-CCHFV-N) ve rutin olarak kullanılan iki aşı platformu, Adenovirus tip 5 ve bir DNA vektörü (pCDNA3.1 myc/His A) ile karşılaştırılmış, BALB/c ve IFN α / β /R $^{-/-}$ farelerde immünojenisitesini ve koruma potansiyelini ortaya konmuştur.



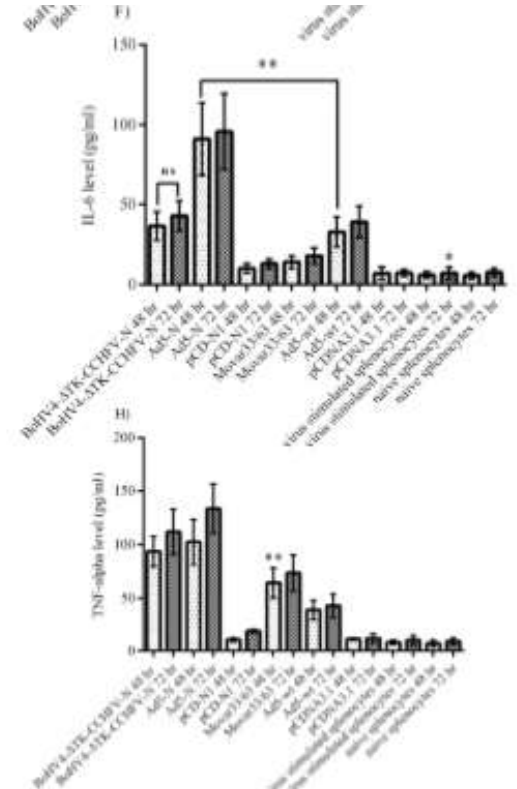
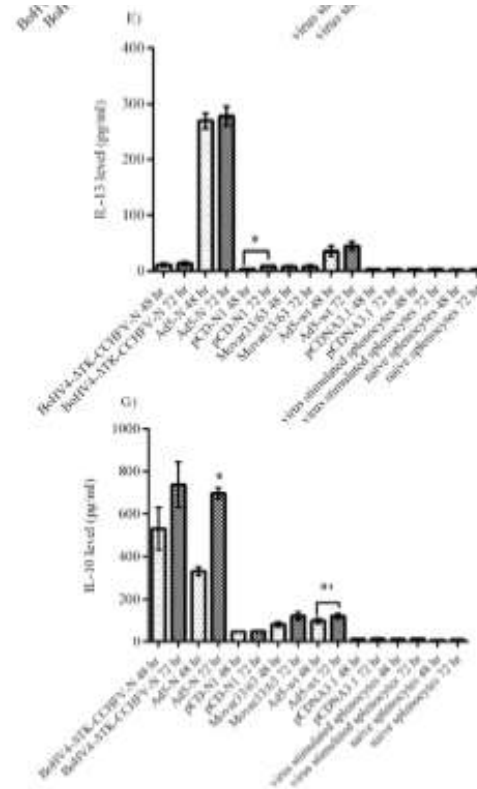
Bağıışıklık Parametreleri

- Genel ve Spesifik Başıklık Yanıtları



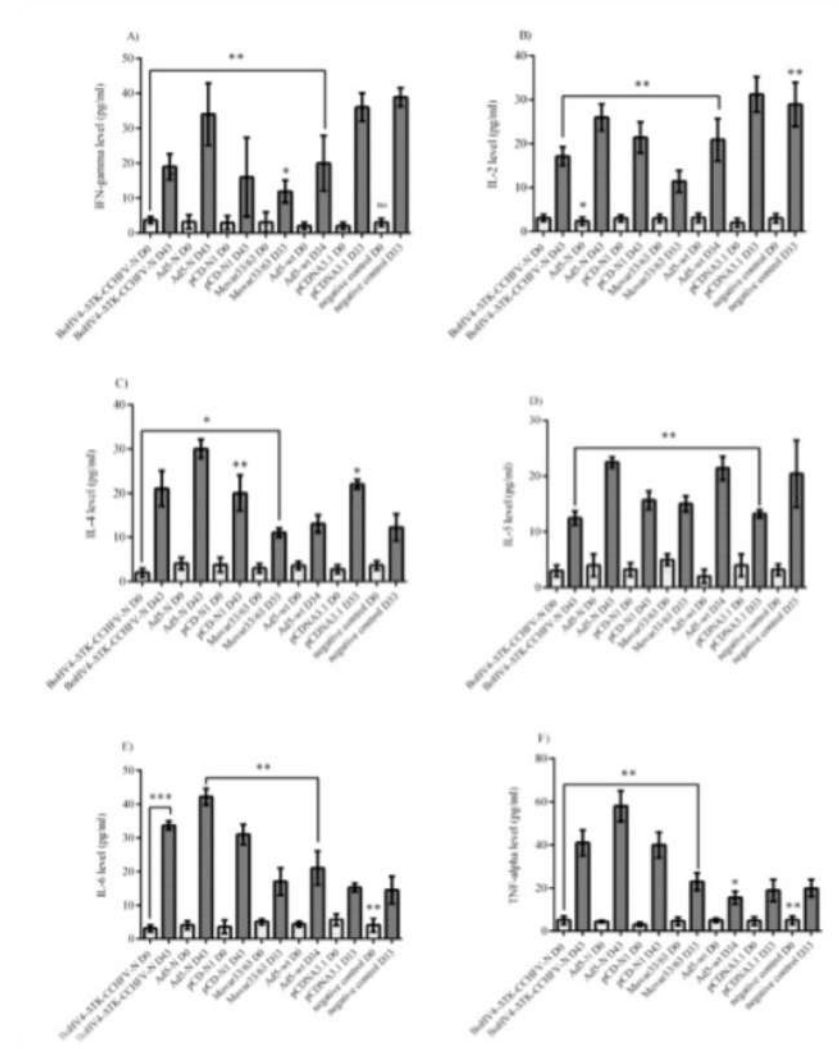
Bağıışıklık Parametreleri

- Balb/c dalak hücre tespit edilen sitokin

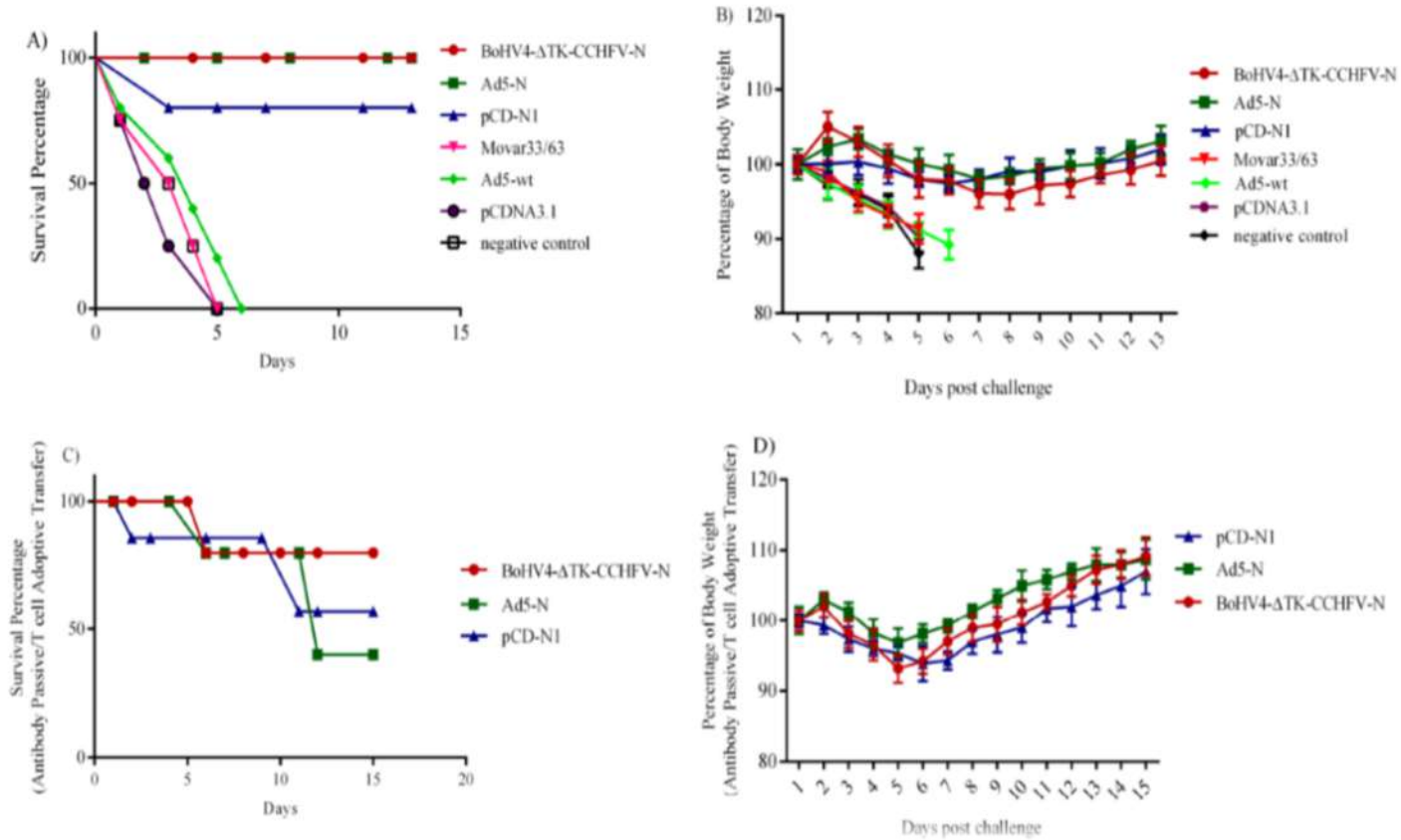


Bağıışıklık Parametreleri

- IFNAR serum örneklerinde tespit edilen sitokin yanıtları



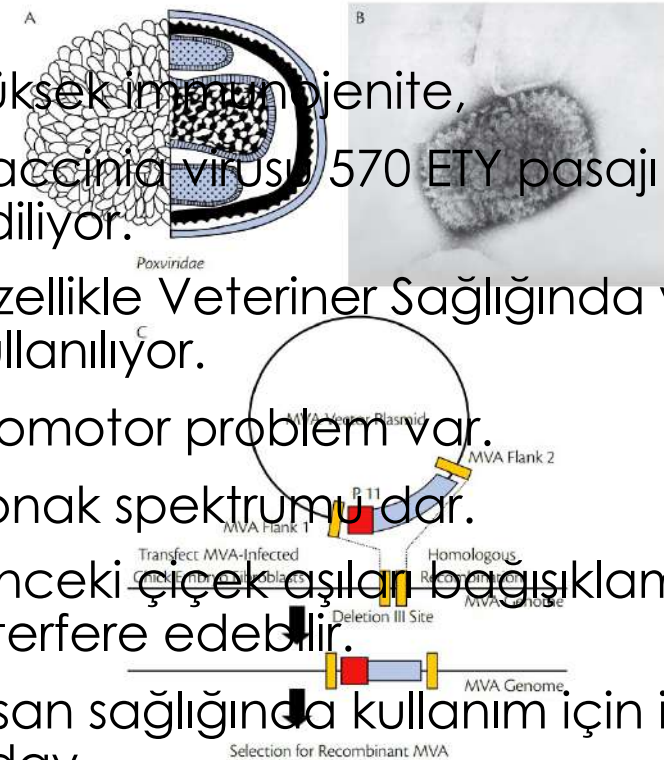
Yaşamsal Veriler



Vektör Platform'lar

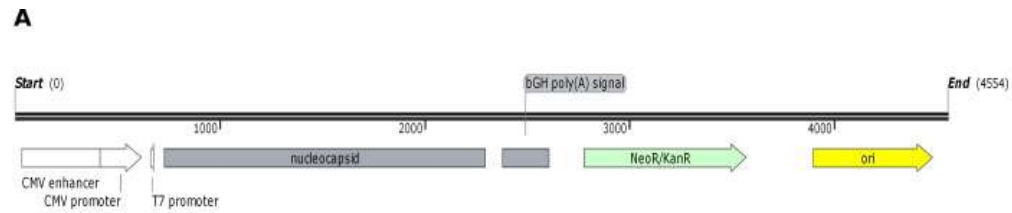
- Adenovirus – CCHFV-N
- BHV-4 – CCHFV-N
- MVA – CCHFV-N

- Yüksek immünojenite,
- Vaccinia virus 570 ETY pasajı ile elde ediliyor.
- Özellikle Veteriner Sağlığında yoğun kullanılıyor.
- Promotor problem var.
- Konak spektrumu dar.
- Önceki çiçek aşılarda bağışıklamayı interfere edebilir.
- İnsan sağlığında kullanım için iyi bir aday.

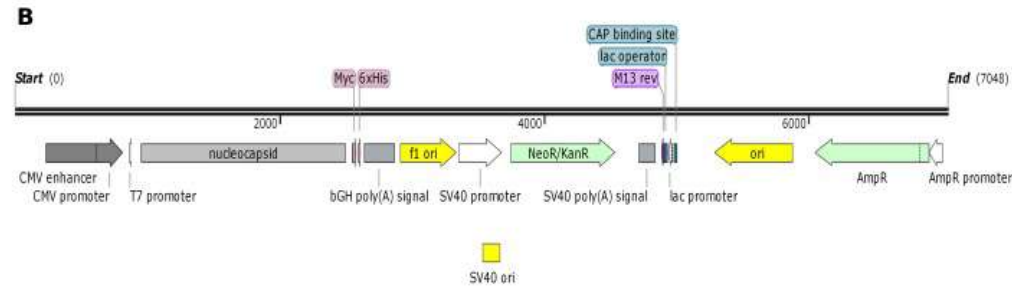


DNA Platformları

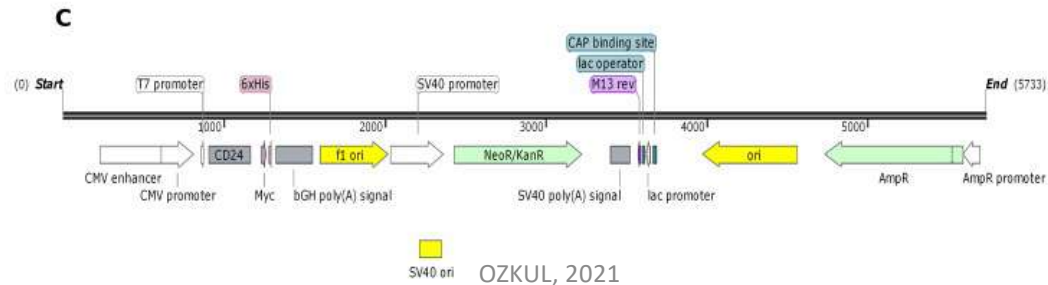
pVax-N



pCDNA-N



pCD24



OZKUL, 2021

Article

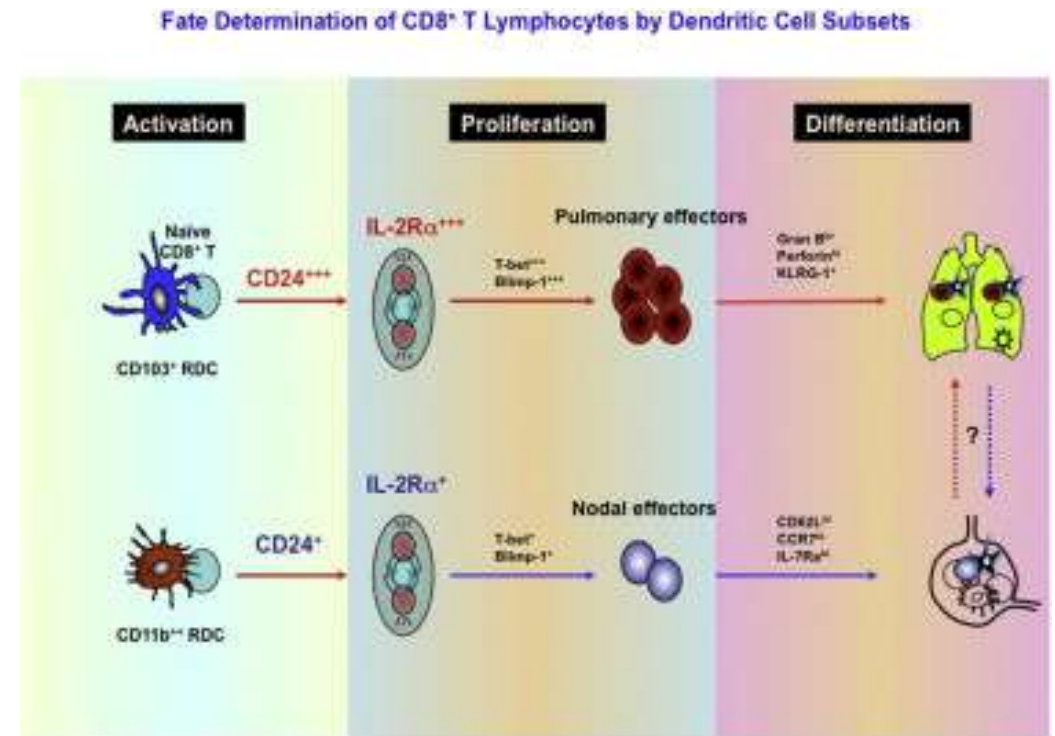
Co-Delivery Effect of CD24 on the Immunogenicity and Lethal Challenge Protection of a DNA Vector Expressing Nucleocapsid Protein of Crimean Congo Hemorrhagic Fever Virus*Viruses* **2019**, *11*, 75; doi:10.3390/v11010075

Touraj Aligholipour Farzani ¹ , Alireza Hanifehnezhad ¹, Katalin Földes ¹, Koray Ergünay ², Erkan Yılmaz ³, Hiba Hashim Mohamed Ali ¹ and Aykut Ozkul ^{1,3,*} 

2019 yılında yaptığımız bir çalışmada CCHFV'nin nükleokapsit proteinini ifade eden bir vektör tasarlanmış ve CD24 ifade eden bir diğer DNA vektörü ile BALB/c ve IFNAR^{-/-} farelerde sitokin uyarımı ve total/spesifik antikor cevapları gibi immünojenik yanıtlarının değerlendirilmesi gerçekleştirilmiştir.

Cluster of differentiation 24 - CD24

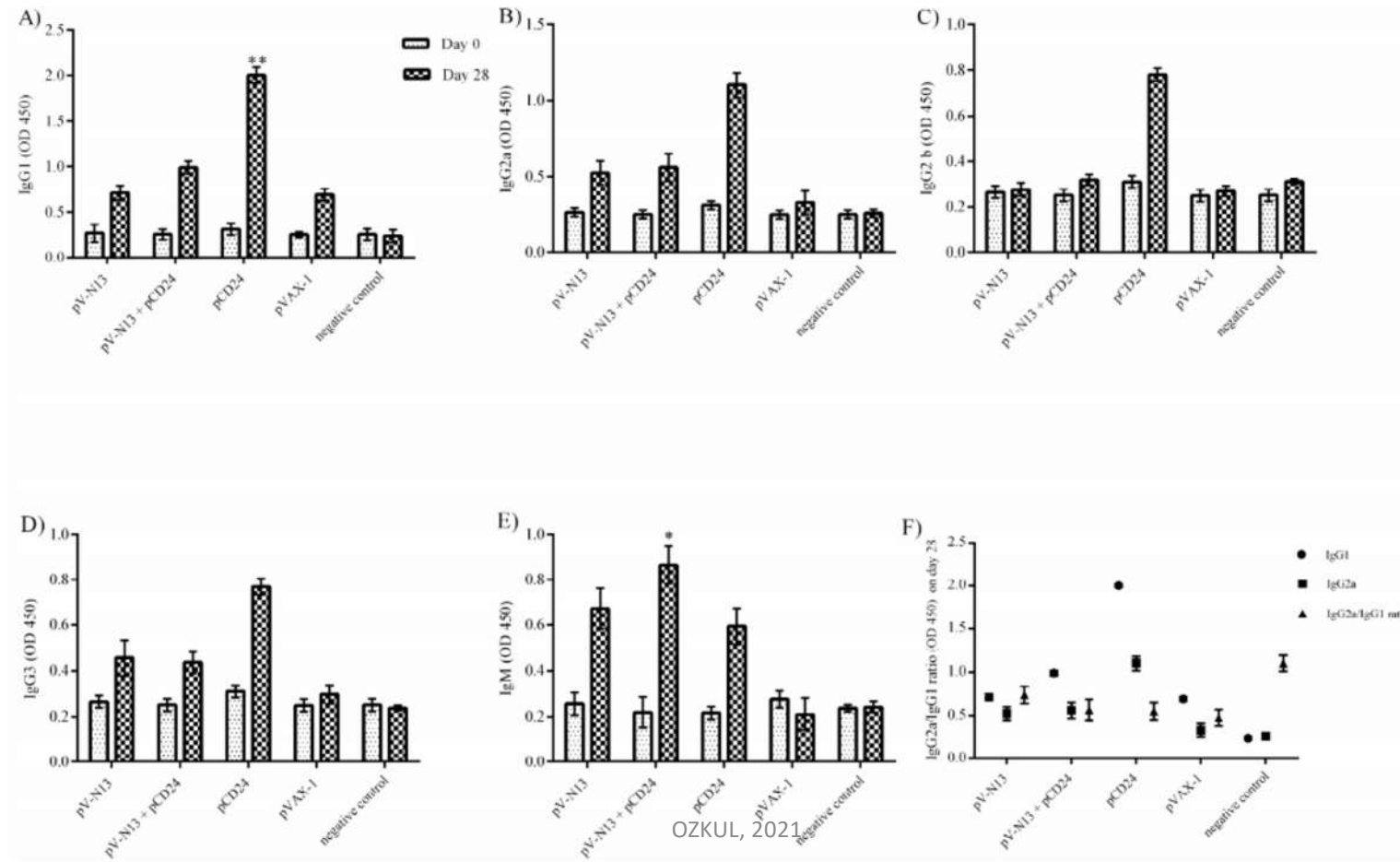
- B ve T lenfositler, nötrofil ve makrofajlar üzerinde bulunan yüksek glikozile müsin benzeri bir hücre yüzeyi proteindir.
- CD24, yüksek seviyede B-hücresi progenitörleri üzerinde ve daha az olarak ta olgun B hücreleri üzerinde eksprese edilir, ancak terminal farklılaşan plazma hücreleri üzerinde ifade edilmez.
- Bu proteinin aktive B hücreleri üzerindeki varlığı, CD4+ T lenfositlerinin klonal genişlemesini artırma potansiyeline sahiptir (Liu ve ark., 1992).
- CD4 + T hücrelerinin bilinen en önemli işlevi, B lenfosit hücreleri tarafından yüksek afiniteli nötralizan antikor üretimini teşvik etmektir (King, 2011).



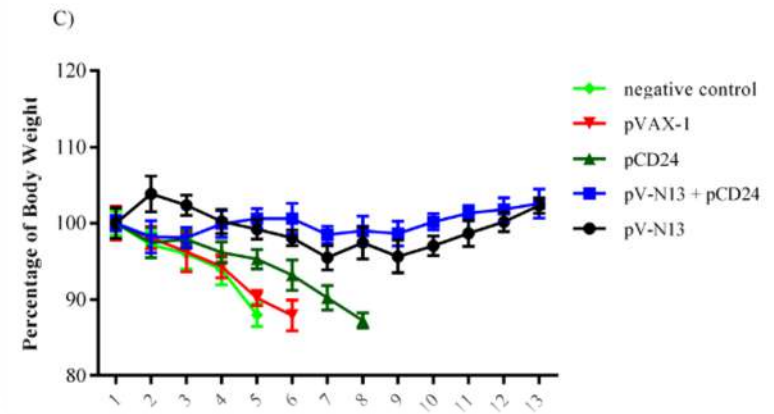
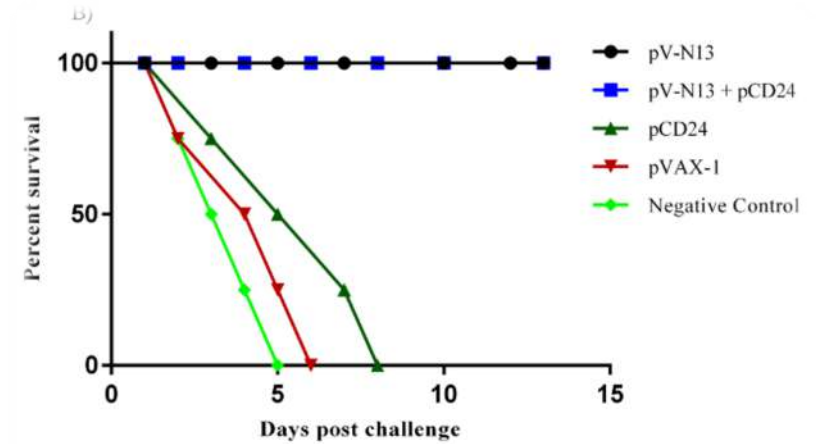
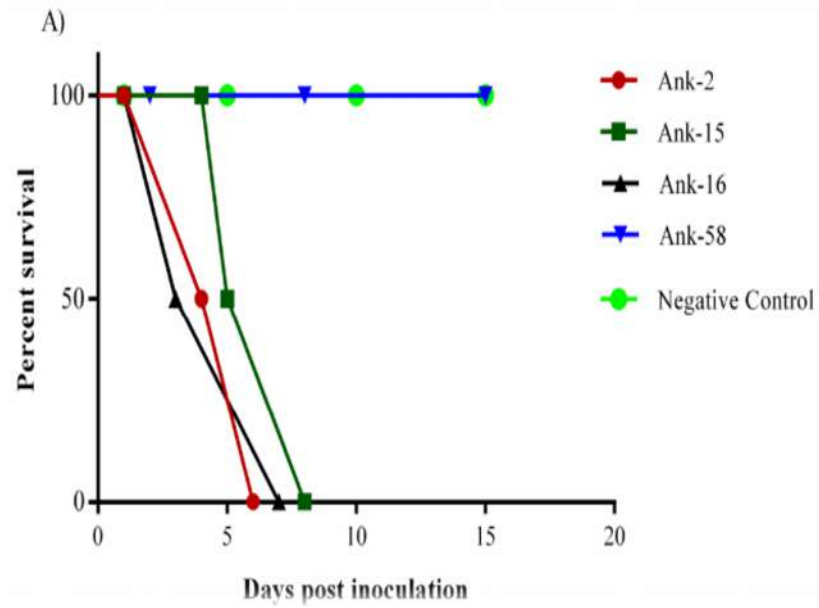
CD-24

- Bu hücrelerin antiviral sitokin üretimlerinin veya doğrudan sitotoksite etkilerinin uyarılması yoluyla viral ajanlar üzerinde doğrudan etkiye sahip olduğu fikrini destekleyen bazı kanıtlar bulunmuştur.
- Lenfopenik konakçılarda T hücrelerinin optimum homeostatik proliferasyonu için fonksiyonel bir CD24 geni gereklidir.
- Naif CD24 T hücreleri, antijen sunucu hücreler (APC'ler) yoluyla viral patojenleri tanıyabilir. Daha sonra Th1 hücreleri, tip I IFN ve IL12'ye bağlı olarak üretilir (Swain ve ark., 2012).
- Bununla birlikte, dendritik hücrelerde CD24'ün bulunması, T hücrelerinin proliferasyonunu azaltma potansiyeline sahiptir (Li ve ark., 2006).

Bağıışıklık Parametreleri – Ig Yanıtları



Yaşamsal Veriler





Article

Immunological Analysis of a CCHFV mRNA Vaccine Candidate in Mouse Models

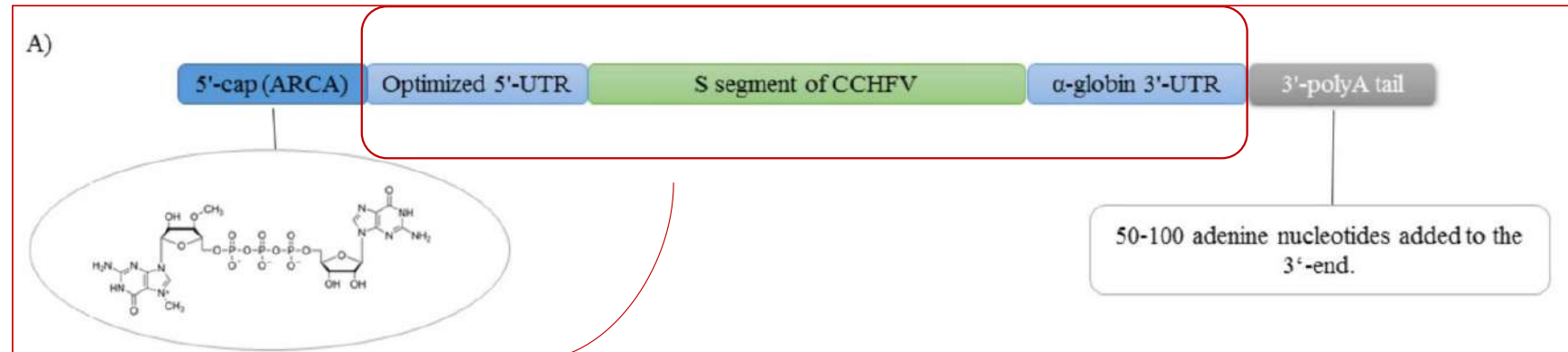
Touraj Aligholipour Farzani ¹, Katalin Földes ¹, Koray Ergünay ², Hakan Gurdal ³, Aliye Bastug ⁴ and Aykut Ozkul ^{1,5,*}

RNA Aşı Platformu

Vaccines **2019**, *7*, 115; doi:10.3390/vaccines7030115

Bir diğer çalışmamız yine 2019 yılında yayınladığımız Kırım-Kongo Kanamalı Ateş virüsünün (CCHFV) Ank-2 suşunun optimize edilmemiş küçük (S) segmentini ifade eden yeni bir çıplak geleneksel mRNA aşısı olmuştur.

Aşının Yapısı



Anti-reverse Cap Analogue

PCR ile amplifikasyon $\xrightarrow{\text{T7 Polimeraz}}$ mRNA (MEGAClear ile purification)

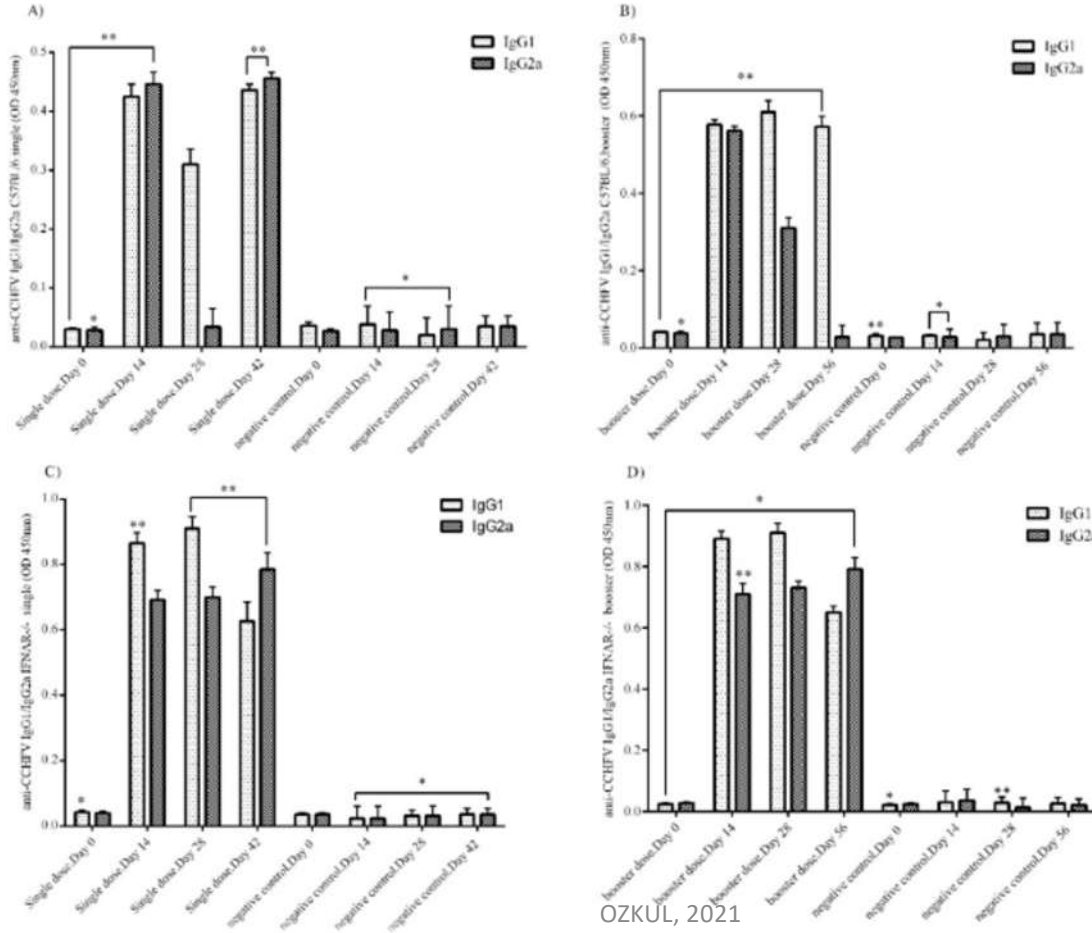
25 μ g Aşılama

IFNa/ β -R -/- ve C57BL/6 iki fare modelinde, tek ve güçlendirici doz immünojenisitesi ve koruma potansiyeli analiz edilmiştir.

%100 koruma oranı sadece IFNa/ β /R -/- farelerinin güçlendirici doz grubunda elde edilmiştir

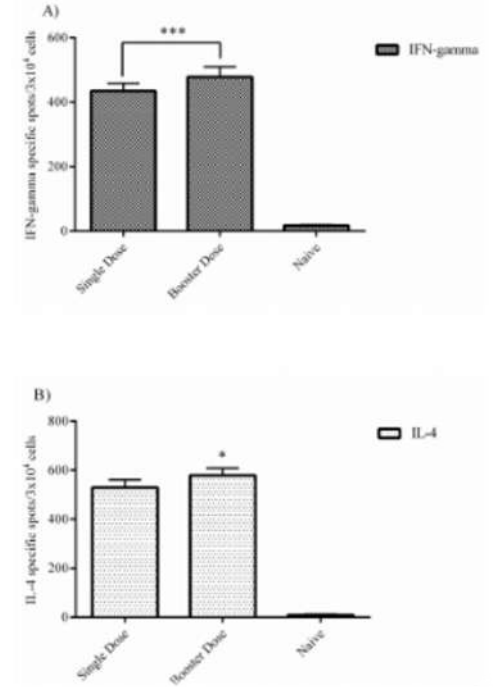
Bağıışıklık Parametreleri – Ig ve Sitokin Yanıtları

Çalışmada geliştirilen indirekt ELISA tekniği ile tek ve tekrar aşı uygulamaları sonrasında Spesifik Ig miktarlarında artış tespit edildi.



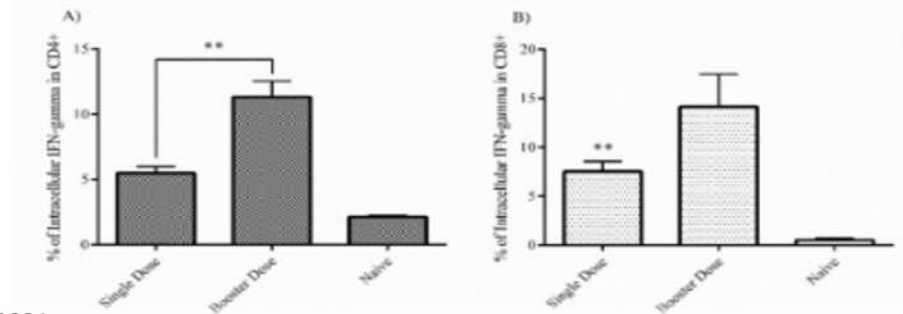
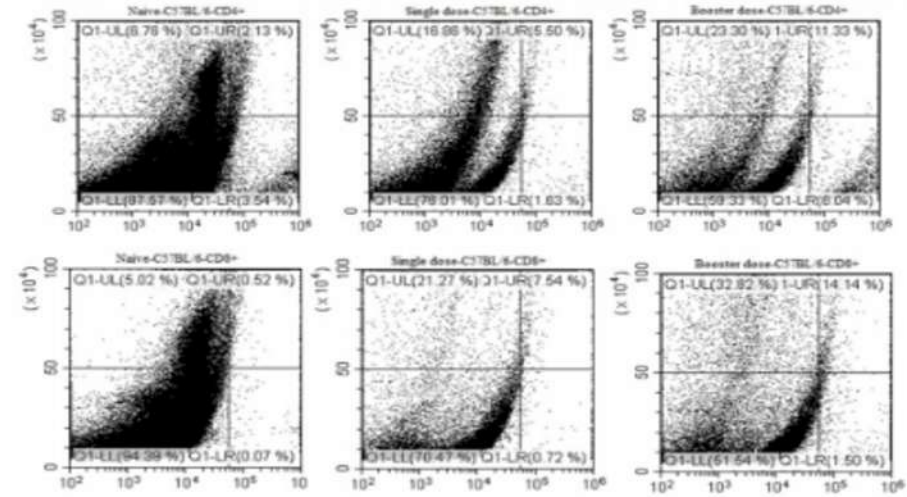
OZKUL, 2021

Dalak hücrelerine ELISPOT



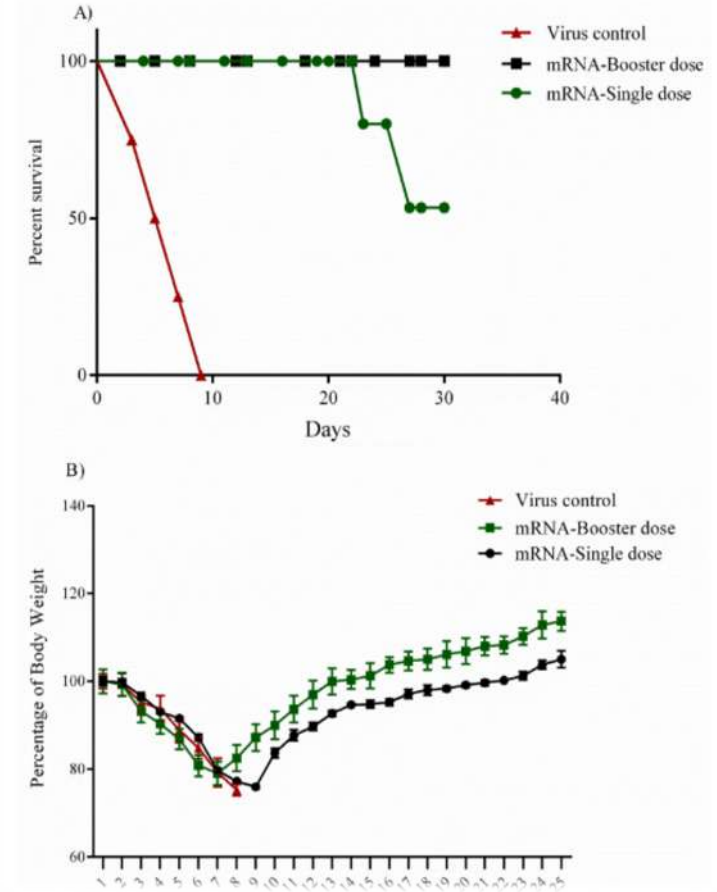
Bağıışıklık Parametreleri – Sitokin Yanıtları (CD4+, CD8a+T Lenfositlerde)

- Boost doz aşının Dalakta INF-g üreten antijene spesifik hem CD4 ve hem de CD8a hücre sayılarının artışına neden olduğu görülürken,
- Bu hücrelerdeki INF-g miktarının boost dozdan sonra daha artış gösterdiği görülmüştür.



Yaşamsal Veriler

- Booster gruptaki hayvanların 30 günlük süreçte tamamı yaşamına devam ederken, tek doz aşılananlar yaşam oranı %50 olarak kaydedildi.
- Booster grupta tek doz aşılanan gruba göre daha hızlı kilo alma ve iyileşme



Çıkarılan Dersler

- Alt yapı yetersizlikleri,
- Bilgi yetersizliği,
- Alt yapıların idamesi sorunları,
- Alan uzmanı yetersizlikleri,
- Mevzuata ilişkin sorunlar,

Teşekkür ederim



Erkan Yılmaz



Touraj Aligholipour Farzani



Katalin Földes



Koray Ergünay



Doruk Engin



Alireza Hanifnezhad



Bülent Alten

Ozkul, 2021



Teşekkür Ederim

ozkul@ankara.edu.tr

OZKUL, 2021