



TURKOVAC KLİNİK ARAŞTIRMA ÖZETLERİ



Seçil Uysal
Sebahat Tekcan Düğenci
Betül Kurtuluş Güngör
Aslıhan Coşkun
Pervin Özelçi
Figen Teker
Ateş Kara



GİRİŞ;..... 6

SİMGELER VE KISALTMALAR; 7

SEKİLLER; 9

TABLolar;..... 12

I-TURKOVAC KLİNİK ARAŞTIRMALARI 14

FAZ I..... 14

I- TURKOVAC KLİNİK ARAŞTIRMALARI-FAZ I 15

I.I Çalışma Başlığı: 15

I.II. Çalışma Kodu: 15

I.III. Çalışmanın Yapıldığı Merkezler ve Araştırmacı Bilgileri: 15

I.III. I. Koordinatör Merkez: 15

I.III.II. Koordinatör Araştırmacı:..... 15

I.III.III. Çalışmanın Yapıldığı Diğer Merkezler ve Sorumlu Araştırmacıları: 15

I.IV. Çalışmada Kullanılan Ürünler: 15

I.V. Çalışma Dizaynı: 15

I.V.I. Çalışmanın Amacı: 16

I.V.II. Çalışmanın Süresi: 16

I.VI. Çalışma Metodolojisi:..... 16

I.VI.I. Etkinlik:..... 16

I.VI.II. Güvenlik: 17

I.VII. Sonuçlar..... 18

I.VII. I. Etkinlik Sonuçları: 19

I.VII.II. Güvenlik Sonuçları: 22

I.VII.III Genel Sonuç: 25

II-TURKOVAC KLİNİK ARAŞTIRMALARI 26

FAZ II..... 26

II-TURKOVAC KLİNİK ARAŞTIRMASI-FAZ II 27

II.I Çalışma Başlığı: 27

II.II. Çalışma Kodu: 27

II.III. Çalışmanın Yapıldığı Merkezler ve Araştırmacı Bilgileri: 27

II.III. I. Koordinatör Merkez: 27

II.III.II. Koordinatör Araştırmacı:..... 27

II.III.III. Çalışmanın Yapıldığı Diğer Merkezler ve Sorumlu Araştırmacıları: 27

II.IV. Çalışmada Kullanılan Ürünler: 27

II.V. Çalışma Dizaynı: 27

II.V.I. Çalışmanın Amacı: 28

II.V.II. Çalışmanın Süresi: 28

II.VI. Çalışma Metodolojisi:..... 28

II.VI. I. Etkinlik:..... 28



II.VII. Sonuçlar:	30
II.VII. I. Etkinlik Sonuçları:	31
II.VII. II. Güvenlilik Sonuçları:	34
II.VII.III Genel Sonuç :	36
III-TURKOVAC KLİNİK ARAŞTIRMALARI	37
RAPEL FAZ II	37
III-TURKOVAC KLİNİK ARAŞTIRMASI- RAPEL FAZ II.....	38
III.I Çalışma Başlığı:	38
III.II. Çalışma Kodu:	38
III.III. Çalışmanın Yapıldığı Merkezler ve Araştırmacı Bilgileri:	38
III.III. I. Koordinatör Merkez:	38
III.III.II. Koordinatör Araştırmacı:.....	38
III.III.III. Çalışmanın Yapıldığı Diğer Merkezler ve Sorumlu Araştırmacıları:.....	38
III.IV. Çalışmada Kullanılan Ürünler:.....	38
III.V. Çalışma Dizaynı:	39
III.V.I. Çalışmanın Amacı:	39
III.V.II. Çalışmanın Süresi:	39
III.VI. Çalışma Metodolojisi:.....	39
III.VI. I. Etkinlik:.....	40
III.VI.II. Güvenlik:	41
III.VII. Sonuçlar:	41
III.VII. I. Etkinlik Sonuçları:	43
III.VII.II. Güvenlik Sonuçları:	55
IV-TURKOVAC KLİNİK ARAŞTIRMALARI	61
2 BİONTECH COVID'19 AŞISI SONRASI RAPEL FAZ IIB.....	61
IV-TURKOVAC KLİNİK ARAŞTIRMALARI-2 BİONTECH COVID'19 AŞISI SONRASI RAPEL FAZ IIB.....	62
IV.I Çalışma Başlığı:.....	62
IV.II. Çalışma Kodu:.....	62
IV.III. Çalışmanın Yapıldığı Merkezler ve Araştırmacı Bilgileri:	62
IV.III.I. Koordinatör Merkez:	62
IV.III.II. Koordinatör Araştırmacı:	62
IV.III.III. Çalışmanın Yapıldığı Diğer Merkezler ve Sorumlu Araştırmacıları:	62
IV.IV. Çalışmada Kullanılan Ürünler:.....	63
IV.V. Çalışma Dizaynı:	63
IV.V.I. Çalışmanın Amacı:.....	64
IV.V.II. Çalışmanın Süresi:	64
IV.VI. Çalışma Metodolojisi:	64
IV.VI. I. Etkinlik:.....	65
IV.VI.II. Güvenlik:	65
IV.VII. Sonuçlar:	69
IV.VII. I. Etkinlik Sonuçları:.....	69
IV.VII.II. Güvenlik Sonuçları:	69
IV.VII.III Genel Sonuç:.....	69
V-TURKOVAC KLİNİK ARAŞTIRMALARI	70



ERGEN FAZ IIB.....	70
V-TURKOVAC KLİNİK ARAŞTIRMASI- ERGEN FAZ IIB	71
V.I Çalışma Başlığı:	71
V.II. Çalışma Kodu:	71
V.III. Çalışmanın Yapıldığı Merkezler ve Araştırmacı Bilgileri:	71
V.III. I. Koordinatör Merkez:	71
V.III.II. Koordinatör Araştırmacı:	71
V.III.III. Çalışmanın Yapıldığı Diğer Merkezler ve Sorumlu Araştırmacıları:	71
V.IV. Çalışmada Kullanılan Ürünler:.....	72
V.V. Çalışma Dizaynı:	73
V.V.I. Çalışmanın Amacı:.....	73
V.V.II. Çalışmanın Süresi:	74
V.VI. Çalışma Metodolojisi:	74
V.VI.I. Etkinlik:	75
V.VI.II. Güvenlik:	75
V.VII. Sonuçlar:	79
V.VII.I. Etkinlik Sonuçları:.....	79
V.VII.II. Güvenlik Sonuçları:	79
V.VII.III Genel Sonuç:	79
VI-TURKOVAC KLİNİK ARAŞTIRMALARI	80
PRİMER FAZ III	80
VI-TURKOVAC KLİNİK ARAŞTIRMASI- PRİMER FAZ III.....	81
VI.I Çalışma Başlığı:	81
VI.II. Çalışma Kodu:.....	81
VI.III. Çalışmanın Yapıldığı Merkezler ve Araştırmacı Bilgileri:	81
VI.III. I. Koordinatör Merkez:	81
VI.III.II. Koordinatör Araştırmacı:	81
VI.III.III. Çalışmanın Yapıldığı Diğer Merkezler ve Sorumlu Araştırmacıları:	81
VI.IV. Çalışmada Kullanılan Ürünler:.....	82
VI.V. Çalışma Dizaynı:	82
VI.V.I. Çalışmanın Amacı:.....	82
VI.V.II. Çalışmanın Süresi:	83
VI.VI. Çalışma Metodolojisi:	83
VI.VI. I. Etkinlik:.....	84
VI.VI.II. Güvenlik:	84
VI.VII. Sonuçlar:	86
VI.VII. I. Etkinlik Sonuçları.....	87
VI.VII.II. Güvenlik Sonuçları:	92
VII-TURKOVAC KLİNİK ARAŞTIRMALARI	110
RAPEL FAZ III	110
VII-TURKOVAC KLİNİK ARAŞTIRMASI- RAPEL FAZ III	111
VII.I Çalışma Başlığı:	111
VII.II. Çalışma Kodu:.....	111
VII.III. Çalışmanın Yapıldığı Merkezler ve Araştırmacı Bilgileri:	111



VII.III. I. Koordinatör Merkez:	111
VII.III.II. Koordinatör Araştırmacı:	111
VII.III.III. Çalışmanın Yapıldığı Diğer Merkezler ve Sorumlu Araştırmacıları:	111
VII.IV. Çalışmada Kullanılan Ürünler:	114
VII.V. Çalışma Dizaynı:	114
VII.V.I. Çalışmanın Amacı:	114
VII.V.II. Çalışmanın Süresi:	115
VII.VI. Çalışma Metodolojisi:	115
VII.VI. I. Etkinlik:	116
VII.VI.II. Güvenlik:	116
VII.VII. Sonuçlar:	117
VII.VII. I. Etkinlik Sonuçları:	118
VII.VII.II. Güvenlik Sonuçları:	126
VIII-TURKOVAC KLİNİK ARAŞTIRMALARI	133
AZERBAYCAN INT-RAPEL FAZ III	133
VIII-TURKOVAC KLİNİK ARAŞTIRMALARI- AZERBAYCAN INT-RAPEL FAZ III	134
VIII.I Çalışma Başlığı:	134
VIII.II. Çalışma Kodu:	134
VIII.III. Çalışmanın Yapıldığı Merkezler ve Araştırmacı Bilgileri:	134
VIII.III.I. Koordinatör Merkez:	134
VIII.III.II. Koordinatör Araştırmacı:	134
VIII.III.III. Çalışmanın Yapıldığı Diğer Merkezler ve Sorumlu Araştırmacıları:	134
VIII.IV. Çalışmada Kullanılan Ürünler:	134
VIII.V. Çalışma Dizaynı:	134
VIII.V.I. Çalışmanın Amacı:	135
VIII.V.II. Çalışmanın Süresi:	135
VIII.VI. Çalışma Metodolojisi:	135
VIII.VI. I. Etkinlik:	137
VIII.VI.II. Güvenlik:	138
VIII.VII. Sonuçlar:	138
VIII.VII. I. Etkinlik Sonuçları:	138
VIII.VII.II. Güvenlik Sonuçları:	138
VIII.VII.III Genel Sonuç:	138
IX-TURKOVAC- GÖZLEMSEL ÇALIŞMALAR	139
IX.I-TURKOVAC GÖZLEMSEL ÇALIŞMALAR- BİR DOZ SONRASI TELEFON ANKETİ	140
IX.I.I Çalışma Başlığı:	140
IX.I.II Çalışmanın Yapıldığı Merkezler ve Araştırmacı Bilgileri:	140
IX.I.II.I. Koordinatör Merkez:	140
IX.I.II.II. Koordinatör Araştırmacı:	140
IX.I.II.III. Çalışmanın Yapıldığı Diğer Merkezler ve Sorumlu Araştırmacıları:	140
IX.I.III Çalışma Amacı:	140
IX.I.IV Çalışmanın Süresi:	140
IX.I.V Çalışma Metodolojisi:	140
IX.I.VI Sonuçlar:	140



IX.I.VI.I Bulgular:	140
IX.I.VI.II Genel Sonuçlar:	141
IX.II-TURKOVAC GÖZLEMSEL ÇALIŞMALAR- İKİ DOZ SONRASI TELEFON ANKETİ.....	142
IX.II.I Çalışma Başlığı:	142
IX.II.II Çalışmanın Yapıldığı Merkezler ve Araştırmacı Bilgileri:	142
IX.II.II. I. Koordinatör Merkez:	142
IX.II.II.II. Koordinatör Araştırmacı:.....	142
IX.II.II.III. Çalışmanın Yapıldığı Diğer Merkezler ve Sorumlu Araştırmacıları:.....	142
IX.II.III Çalışma Amacı:	142
IX.II.IV Çalışmanın Süresi:	142
IX.II.V Çalışma Metodolojisi:.....	142
IX.II.VI Sonuçlar:	142
IX.II.VI.I Bulgular:	142
IX.II.VI.II Genel Sonuçlar:	143
IX.I-TURKOVAC GÖZLEMSEL ÇALIŞMALAR- ALERJİ ÇALIŞMASI	144
IX.I.I Çalışma Başlığı:	144
IX.I.II Çalışmanın Yapıldığı Merkezler ve Araştırmacı Bilgileri:	144
IX.I.II.I. Koordinatör Merkez:	144
IX.I.II.II. Koordinatör Araştırmacı:.....	144
IX.I.II.III. Çalışmanın Yapıldığı Diğer Merkezler ve Sorumlu Araştırmacıları:.....	144
IX.I.III Çalışma Amacı:	144
IX.I.IV Çalışmanın Süresi:	144
IX.I.V Çalışma Metodolojisi:.....	144
IX.I.VI Sonuçlar:	144
X-EKLER.....	146
X: EK.1.....	147
X: EK.2.....	164
X: EK.3.....	184
X: EK.4.....	195
X: EK.5.....	206
X: EK.6.....	223
X: EK.7.....	224



GİRİŞ;

Türkiye Sağlık Enstitüsü Başkanlığı (TÜSEB) tarafından, COVID-19 Pandemisi döneminde, ülkemizde COVID-19 Aşısı geliştirilmesine yönelik olarak dokuz aşısı projesi desteklenmiştir. Bu çerçevede desteklenen projelerden Kayseri Erciyes Üniversitesi ve Erciyes Üniversitesi Araştırma Geliştirme Merkezi iş birliği ile planlanan ve geliştirilen ve Türkiye Sağlık Enstitüsü Başkanlığı (TÜSEB) tarafından desteklenen TURKOVAC aşısının olan ERUCOV-VAC (Turkovac'ın geçici adı) çalışması, Prof. Dr. Aykut Özdarendeli ve ekibinin çalışmalarıyla Türkiye'de doğrulanmış COVID-19 olan bir hastadan. hCoV-19/Turkey/ERAGEM-001/2020 suşunun tüm genomik dizisi ve replikasyon özellikleri açıklanmıştır. Prof. Dr. Aykut ÖZDARENDELİ, virüsün izole edildiğini ve 21 Mart 2020'de RT-PZR (Reverz Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu) testi ile de izolasyonu doğrularak aynı gün Sağlık Bakanlığını bilgilendirerek ve akabinde virüs izolatının yeni nesil dizileme çalışmalarına başlandı. 3.Nisan.2020 tarihinde TÜSEB'e proje başvurusu yapıldı ve projenin kabulünden sonra Covid-19'a karşı geliştirilen hücre kültür temelli inaktif aşısı adayının deney hayvanları denemeleri 15 Mayıs 2020 tarihi itibarıyla başladı. Yapılan hayvan deneylerinde ERUCOV-VAC 'ın etkili ve güvenli bulunmasıyla prelinik çalışmasını başarıyla tamamlayarak sağlıklı bireylerde yapılacak faz 1 klinik çalışmalarına yerel komitenin onayı ile geçildi.

EK-1: Prof. Dr. Aykut Özdarendeli Makale *“Isolation and characterization of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 in Turkey”*

EK-2 Prof.Dr. Aykut Özdarendeli Makale *“Development of an Inactivated Vaccine against SARS CoV-2”*



SİMGELER ve KISALTMALAR;

ABD	Ana Bilim Dalı
ACE2	Anjiyotensin 2
ACE2-RBD kiti	Anjiyotensin 2- Receptor-binding domain kiti
ADR	Adverse drug reaction
AE	Advers event
AO	Advers olay
ALT	Alanin Aminotransferaz
AM	Arithmetic Mean
ANOVA	ANalysis Of VAriance
aPTT	Activated Partial Thromboplastin Time
Ar-Ge	Araştırma Geliştirme
AST	Aspartat Aminotransferaz
BGOF	Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu
BNT162b2	BioNTech COVID-19 mRNA aşısı -comirnaty
BUN	Blood Urea Nitrogen
BVİK	Bağımsız veri izleme komitesi
°C	Derece santigrat
CAO	Ciddi advers olay
CD4	Cytotoxic T cells
COVID'19	Koronavirüs hastalığı 2019
CPE	Cytopathic Effect
ÇAD	Çalışma ana dosyası
Doç.	Doçent
Dr.	Doktor
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EKG	ElektroKardiyoGram
ELİSA	Enzyme- Linked Immuno Sorbent Assay
ELİSPOT	Enzyme-linked immunospot
ERAGEM	Erciyes Üniversitesi Araştırma Geliştirme Merkezi
ERUCOV-VAC	İnaktif virüs aşısı
FDA	Food and Drug Administration
FITC	Fluorescein isothiocyanate
GGT	Gama Glutamil Transferaz
GMC	Geometric Mean Concentration
GMT	Geometric Mean Titration
IgG	İmmüoglobulin G
İL	İnterlökin
IFN-γ	İnterferon gamma
IWRS	İnteractive Web Response System
LDH	Laktat dehidrogenaz
mcg/ µg	Mikrogram
mg	Miligram
ml	Mililitre
µl	Mikrolitre
NaCl	Sodyum klorür
No	Numara
OD	Optical density
ORF	Olgu Rapor Formu
PASS	Power Analyses Sample Size
PBS	Phosphate Buffer Saline



PCR	Polymerase Chain Reaction
Prof.	Profesör
PTT	Partial Thromboplastin Time
RT- PCR	Real time-PCR
SARS-CoV-2	Şiddetli akut solunum sendromu koronavirüsü 2
SMS	Short message service
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
Syf	Sayfa
TAE	Türkiye Aşı Enstitüsü
TİTCK	Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu
TBST	Tris buffered saline with tween
TNF	Timör Nekroz Faktörü
TÜSEB	Türkiye Sağlık Enstitüleri Başkanlığı
USA	The United States of America
WBC	White Blood Cell



ŞEKİLLER;

NO	İçerik	Syf
Şekil 1.1	0. Ve 43. Günler pozitif serkonvansiyon	19
Şekil 1.2	Aşı dozları için nötralizan antikor oluşum kinetiği	20
Şekil 1.3	Nötralizan antikor tablo ve titresi	21
Şekil 1.4	Nötralizan antikor tablolar(35.gün,43. Gün ,56.gün, 4.ay)	21
Şekil 1.5	35.gün, 43.gün, 56.gün, 2.ay,4.ay grafik ve GM, AM eğrileri	22
Şekil 2.1	Faz 2 gönüllü dispoziyonu	30
Şekil 2.2	Faz 2 gönüllü dispoziyonu 43.gün ara değerlendirme	31
Şekil 2.3	Aşı dozlarına göre analitik sonuç	32
Şekil 2.4	Plazmada ölçülen IgG'nın zamana karşı ölçülen miktar grafiği	33
Şekil 2.5	43. günde nötralizan antikor oluşumu	33
Şekil 2.6	Nötralizan Antikorların zamana karşı ölçülen miktar grafiği	33
Şekil 2.7	4. ayda booster aşı yapılan gönüllülere karşı yapılmayan gönüllülerin plazmalarında IgG miktarı	33
Şekil 2.8	4. ayda booster aşı yapılan gönüllülere karşı yapılmayan gönüllülerin plazmalarında nötralizan antikor miktarı	34
Şekil 3.1	Hibrid-Cov gönüllü dispoziyonu	42
Şekil 3.2	Tüm Gönüllülerde Görülen Igg Spike Pozitiflik Oranı	43
Şekil 3.3	Tüm Gönüllülerde Görülen Orijinal Virüs Pozitiflik Oranı (6 ve Üzeri)	43
Şekil 3.4	Tüm Gönüllülerde Görülen Orijinal Virüs Pozitiflik Oranı (12 ve Üzeri)	44
Şekil 3.5	Tüm Gönüllülerde Görülen Delta Pozitiflik Oranı	44
Şekil 3.6	Tüm Gönüllülerde Görülen Delta Pozitiflik Oranı (12 ve Üzeri)	44
Şekil 3.7	Aşılama sonrası ilk 5 ayda tüm gönüllülerde görülen IgG spike pozitiflik oranı	45
Şekil 3.8	Aşılama Sonrası İlk 5 Ayda Tüm Gönüllülerde Görülen Orijinal Virüs Pozitiflik Oranı (6 ve üzeri)	45
Şekil 3.9	Aşılama Sonrası İlk 5 Ayda Tüm Gönüllülerde Görülen Orijinal Virüs Pozitiflik Oranı (12 ve üzeri)	46
Şekil 3.10	Aşılama Sonrası İlk 5 Ayda Tüm Gönüllülerde Görülen Delta Pozitiflik Oranı (6 ve üzeri)	46
Şekil 3.11	Aşılama Sonrası İlk 5 Ayda Tüm Gönüllülerde Görülen Delta Pozitiflik Oranı (12 ve üzeri)	47
Şekil 3.12	Aşılama Sonrası 5 Ay Sonra Tüm Gönüllülerde Görülen IgG Spike Pozitiflik Oranı	47
Şekil 3.13	Aşılama Sonrası 5 Ay Sonra Tüm Gönüllülerde Görülen Orijinal Virüs Pozitiflik Oranı (6 ve üzeri)	48
Şekil 3.14	Aşılama Sonrası 5 Ay Sonra Tüm Gönüllülerde Görülen Orijinal Virüs Pozitiflik Oranı (12 ve üzeri)	48



Şekil 3.15	Aşılamadan 5 Ay Sonra Tüm Gönüllülerde Görülen Delta Pozitiflik Oranı (6 ve üzeri)	49
Şekil 3.16	Aşılamadan 5 Ay Sonra Tüm Gönüllülerde Görülen Delta Pozitiflik Oranı (12 ve üzeri)	49
Şekil 3.17	Aşılama Sonrası İlk 6 Ayda Tüm Gönüllülerde Görülen IgG Spike Pozitiflik Oranı	50
Şekil 3.18	Aşılama Sonrası İlk 6 Ayda Tüm Gönüllülerde Görülen Orijinal Virüs Pozitiflik Oranı (6 ve üzeri)	50
Şekil 3.19	Aşılama Sonrası İlk 6 Ayda Tüm Gönüllülerde Görülen Orijinal Virüs Pozitiflik Oranı (12 ve üzeri)	51
Şekil 3.20	Aşılama Sonrası İlk 6 Ayda Tüm Gönüllülerde Görülen Delta Pozitiflik Oranı (6 ve üzeri)	51
Şekil 3.21	Aşılama Sonrası İlk 6 Ayda Tüm Gönüllülerde Görülen Delta Pozitiflik Oranı (12 ve üzeri)	52
Şekil 3.22	Aşılamadan 6 Ay Sonra Tüm Gönüllülerde Görülen IgG Spike Pozitiflik Oranı	52
Şekil 3.23	Aşılamadan 6 Ay Sonra Tüm Gönüllülerde Görülen Orijinal Virüs Pozitiflik Oranı (6 ve üzeri)	53
Şekil 3.24	Aşılamadan 6 Ay Sonra Tüm Gönüllülerde Görülen Orijinal Virüs Pozitiflik Oranı (12 ve üzeri)	54
Şekil 3.25	Aşılamadan 6 Ay Sonra Tüm Gönüllülerde Görülen Delta Pozitiflik Oranı (6 ve üzeri)	54
Şekil 3.26	Aşılamadan 6 Ay Sonra Tüm Gönüllülerde Görülen Delta Pozitiflik Oranı (12 ve üzeri)	54
Şekil 6.1	TURKOVAC Primer Faz 3 İkinci Doz Aşıdan 14 Gün ve Üzeri COVID-19 Vaka İnsidansı	87
Şekil 6.2	TURKOVAC Primer Faz 3 IgG spike oranı	88
Şekil 6.3	TURKOVAC Primer Faz 3 Pseudo nötralizasyon	89
Şekil 6.4	TURKOVAC Primer Faz 3 mikro nötralizasyon- Wuhan oranı	90
Şekil 6.5	TURKOVAC Primer Faz 3 mikro nötralizasyon- Delta oranı	90
Şekil 7.1	Tüm Gönüllülerde Görülen Igg Spike Pozitiflik Oran	118
Şekil 7.2	Kadın Gönüllülerde Görülen IgG Spike Pozitiflik Oranı	118
Şekil 7.3	Erkek Gönüllülerde Görülen IgG Spike Pozitiflik Oranı	119
Şekil 7.4	Tüm Gönüllülerde Görülen Wuhan Pozitiflik Oranı	119
Şekil 7.5	Kadın Gönüllülerde Görülen Wuhan Pozitiflik Oranı	120
Şekil 7.6	Erkek Gönüllülerde Görülen Wuhan Pozitiflik Oranı	120
Şekil 7.7	Tüm Gönüllülerde Görülen Alfa Pozitiflik Oranı	121
Şekil 7.8	Kadın Gönüllülerde Görülen Alfa Pozitiflik Oranı	121
Şekil 7.9	Erkek Gönüllülerde Görülen Alfa Pozitiflik Oranı	121
Şekil 7.10	Tüm Gönüllülerde Görülen Delta Pozitiflik Oranı	122
Şekil 7.11	Kadın Gönüllülerde Görülen Delta Pozitiflik Oranı	122



Şekil 7.12	Erkek Gönüllülerde Görülen Delta Pozitiflik Oranı	123
Şekil 7.13	Tüm Gönüllülerde Görülen Omicron Pozitiflik Oranı	123
Şekil 7.14	Kadın Gönüllülerde Görülen Omicron Pozitiflik Oranı	123
Şekil 7.15	Erkek Gönüllülerde Görülen Omicron Pozitiflik Oranı	124
Şekil 7.16	Tüm Gönüllülerde Görülen Pseudonötralizan Pozitiflik Oranı	124
Şekil 7.17	Kadın Gönüllülerde Görülen Pseudonötralizan Pozitiflik Oranı	125
Şekil 7.1	Erkek Gönüllülerde Görülen Pseudonötralizan Pozitiflik Oranı	125



TABLolar;

No	İçerik	Syf.
Tablo 1.1	Faz 1 klinik araştırma gönüllü dizpozisyonu	18
Tablo 1.2	1.aşılama sonrası pozitif serokonversiyon	19
Tablo 1.3	1.aşılama sonrası IgG	19
Tablo 1.4	Nötrolizan antikor değerleri-GM	20
Tablo 1.5	Nötrolizan antikor değerleri-AM	20
Tablo 1.6	Çalışmanın ilk 43 gününde görülen advers olayların ürünler bazında dağılımı	24
Tablo 1.7	Çalışmanın ilk 43 gününde en sık görülen advers olayların görülme oranı	25
Tablo 1.8	Çalışmanın ilk 43 gününde görülen advers olayların ciddiyeti ve görülme ora	25
Tablo 2.1	Aşı dozlarına göre 14, 28 ve 43. günlerde ELISA bağlı IgG serokonversiy gösteren gönüllü yüzdeleri	31
Tablo 2.2	Aşı dozlarına göre 14, 28 ve 43. günlerde ELISA bağlı IgG serokonversiy gösteren gönüllü yüzdeleri	32
Tablo 2.3	İlk 43.günde görülen advers olaylar	35
Tablo 3.1	Hibrid-Cov merkezler ve sorumlu araştırmacıları	38
Tablo 3.2	Bildirilen Advers Olayların Gruplanması	55
Tablo 3.3	İlk 7 Gün İçerisinde Bildirilen Advers Olayların Lokal/Sistemik Grupları Göre Dağılımı	56-57
Tablo 3.4	İlk 7 Gün İçerisinde Bildirilen Advers Olayların Lokal/Sistemik Grupları Göre Şiddet Dağılımı	56-57
Tablo 3.5	İlk 7-14 Gün İçerisinde Bildirilen Advers Olayların Lokal/Sistemik Grupları Göre Dağılımı	57
Tablo 3.6	İlk 7-14 Gün İçerisinde Bildirilen Advers Olayların Lokal/Sistemik Grupları Göre Şiddet Dağılımı	57
Tablo 3.7	İlk 14-28 Gün İçerisinde Bildirilen Advers Olayların Lokal/Sistemik Gruplarına Göre Dağılımı	58
Tablo 3.8	İlk 14-28 Gün İçerisinde Bildirilen Advers Olayların Lokal/Sistemik Gruplarına Göre Şiddet Dağılımı	58
Tablo 4.1	Bildirilen AO lokal ve sistemik dağılımı	62-63
Tablo 4.2	Merkeze göre gönüllü sayısı ve Covid'19 vaka sayısı	69
Tablo 4.3	Bildirilen AO lokal ve sistemik dağılımı	69
Tablo 5.1	TURKOVAC Ergen klinik araştırmasının merkezleri ve sorumlu araştırmacılar	71-72
Tablo 6.1	TURKOVAC Primer Faz 3 klinik araştırmasının merkezleri ve sorumlu araştırmacıları	81-82



Tablo 6.2	TURKOVAC Primer Faz 3 klinik araştırması gönüllü dispozisyonu	86
Tablo 6.3	TURKOVAC Primer Faz 3 klinik araştırması takip süresi	87
Tablo 6.4	Aşı sonrası COVID'19 geçiren hastaları IgG ve nötralizasyon antikor düzeyi	91
Tablo 6.5	TURKOVAC Primer Faz 3 klinik araştırması risk verileri	92
Tablo 6.6	Dünya Sağlık Örgütü COVID'19 klinik durum skalasına göre COVID' dağılımı	92
Tablo 6.7	Bildirilen Advers Olayların Gruplamasının Aşı Koluna Göre Dağılımı	92-93
Tablo 6.8	Bildirilen Advers Olayların Aşı Koluna Göre Dağılımı	93
Tablo 6.9	Güncel Ciddi Advers Olay Tablosu	94-95
Tablo 6.10A	TURKOVAC Primer Faz III Çalışması Advers Olay Sayıları	96-97
Tablo 6.10B	TURKOVAC Primer Faz III Çalışması Advers Olay Sayıları	98-99
Tablo 6.11A	TURKOVAC Primer Faz III Çalışması Advers Olay Sayıları	99-100
Tablo 6.11B	TURKOVAC Primer Faz III Çalışması Advers Olay Sayıları	101/2/3/4
Tablo 6.12A	TURKOVAC Primer Faz III Çalışması Advers Olay Sayıları	104/5
Tablo 6.12B	TURKOVAC Primer Faz III Çalışması Bildirilen Ciddi Advers Olay Sayıları	106/7
Tablo 6.13	TURKOVAC Primer Faz III Çalışması En Sık Bildirilen Advers Olay Sayıları	108
Tablo 7.1	TURKOVAC Rapel Faz 3 klinik araştırmasının merkezleri ve sorumlu araştırmacıları	111/2/3/4
Tablo 7.2	TURKOVAC Rapel Faz 3 klinik araştırması gönüllü dispozisyonu	117
Tablo 7.3	İnaktif Rapel Faz 3 Çalışması Advers Olay Sayıları	126
Tablo 7.4	İnaktif Rapel Faz 3 Çalışması Advers Olay Sayıları	127
Tablo 7.5	İnaktif Rapel Faz 3 Çalışması Advers Olay Sayıları	128
Tablo 7.6	İnaktif Rapel Faz 3 Çalışması Advers Olay Sayıları	129
Tablo 7.7	İnaktif Rapel Faz 3 Çalışması Bildirilen Ciddi Advers Olay Sayıları	130
Tablo 7.8	İnaktif Rapel Faz 3 Çalışması Bildirilen Ciddi Advers Olay Sayıları	131
Tablo 7.9	İnaktif Rapel Faz 3 Çalışması En Sık Bildirilen Advers Olay Sayıları	132



I-TURKOVAC KLİNİK ARAŞTIRMALARI

FAZ I



I- TURKOVAC KLİNİK ARAŞTIRMALARI-FAZ I

I.I Çalışma Başlığı:

“Hücre kültüründe hazırlanan iki farklı yitilikte inaktif COVID 19 Aşısı ERUCOV-VAC’ın, sağlıklı gönüllülere intramusküler yoldan iki kez uygulamasının güvenliliğinin ve immunojenitesinin incelendiği, randomize, çift kör, ulusal, tek merkezli, plasebo kontrollü Faz I klinik araştırması”

I.II. Çalışma Kodu:

Protokol kodu: IDEAL00420-EU01-PK537-1

TÜSEB Kodu: TSB-VAC-COV-ERU-F1.0A

I.III. Çalışmanın Yapıldığı Merkezler ve Araştırmacı Bilgileri:

I.III. I. Koordinatör Merkez:

Kayseri Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hakan Çetinsaya İyi Klinik Uygulama ve Araştırma Merkezi,

I.III.II. Koordinatör Araştırmacı:

Doç. Dr. Zafer Sezer

I.III.III. Çalışmanın Yapıldığı Diğer Merkezler ve Sorumlu Araştırmacıları:

Çalışma tek merkezde gerçekleştirilmiştir. Sorumlu Araştırmacısı Doç. Dr. Zafer Sezer’dir.

I.IV. Çalışmada Kullanılan Ürünler:

Plasebo: Aşı ile eşit miktarda (0.5 ml) kas içine %0.9 salin (NaCl). Plasebo ürün Koçak Farma İlaç ve Kimya Sanayi A.Ş.’nin, Organize Sanayi Bölgesi Fatih Cad. 11. Sok. D:3, Çerkezköy / Tekirdağ adresindeki tesislerinde üretildi.

Araştırma Ürünü 1: ERUCOV-VAC 3 µg / 0.5 ml Aşısı (inaktif covid 19 aşısı)

Araştırma Ürünü 2: ERUCOV-VAC 6 µg / 0.5 ml Aşısı (inaktif covid 19 aşısı)

I.V. Çalışma Dizaynı:

Çift kör, tek merkezli, plasebo kontrollü Faz I klinik araştırma

Araştırma Kolları;

I. Kol: ERUCOV-VAC 3 µg / 0.5 ml Aşısı (inaktif covid 19 aşısı) gönüllü grubuna 3 µg dozda intramusküler olarak 1, 21. Günlerde olmak üzere 2 kez uygulandı.

II. Kol: ERUCOV-VAC 6 µg / 0.5 ml Aşısı (inaktif covid 19 aşısı) gönüllü grubuna 6 µg dozda intramusküler olarak 1, 21. Günlerde olmak üzere 2 kez uygulandı.

III. Kontrol(plasebo) grubuna ise 0.5 ml %0.9 salin intramusküler olarak 1, 21. günlerde olmak üzere 2 kez uygulandı.



I.V.I. Çalışmanın Amacı:

Araştırmanın amacı: Bu çalışmanın primer amacı, yeni geliştirilen inaktif covid 19 aşısının güvenliliğini ve sekonder olarak da immünojenitesini göstermektir.

I.V.II. Çalışmanın Süresi:

Araştırma süresi toplam gönüllü temini ile birlikte yaklaşık olarak 14 ay

Etik Komite Onay Tarihi: 04.10.2020

TİTCK Onay Tarihi: 04.11.2020

İlk Gönüllü Alım Tarihi (Araştırmanın başlangıcı); ilk aşılama 05.11.2020

Son Gönüllü Alım Tarihi; 31.01.2021

Sonlanım noktası: Son gönüllünün alınmasından 1 sene sonra tamamlandı. 69 gönüllü tarandı, çalışma 44 gönüllünün aşılanması ve sonuçlarının değerlendirilmesi sonunda yerel komite onayıyla faz 2 klinik araştırmalarına geçilmiştir.

I.VI. Çalışma Metodolojisi:

Klinik Araştırmanın Sonuçların Değerlendirmesi Planı/Metadolojisi

I.VI.I. Etkinlik:

İmmünojenisite:

Bu inceleme humoral ve hücreyel düzeyde immün cevaplar bazında her aşılama sonrası yapıldı. Bu cevapların aşılamadan sonraki 12 ay içindeki kalıcılığının incelenmesi ise, aşılama sonrası 12. aya kadar sürdürüldü. Bu amaçla aşı uygulaması yapılacak günlerde (1., 21. günlerde) aşılamadan önce (pre-doz), ve ilk aşılamadan sonra 7., 14., 22, 27, 35, 43. günde ayrıca 2., 3., 4., 5., 6., 8., 10. ve 12. aylarda kan numuneleri alınacak ve aşağıda belirtilen immünolojik incelemeler gerçekleştirildi. Antikor titresinin temel değerlendirme parametresi 43. gün alınan kan numunesinde değerlendirildi.

İmmünolojik değerlendirme iki temel kriter üzerinden yapıldı. Bu parametreler üzerinden yapılan değerlendirmeler, çalışmanın farmakolojik/farmakodinamik etkilerini bize gösterdi.

A. Humoral İmmün cevabın saptanması:

1. Aşı spesifik IgG yanıtının saptanması amacıyla gönüllülerden alınacak kan serumunda aşıya karşı oluşacak IgG yanıtı ELISA kiti ile belirlendi. Ayrıca alınan örneklerin yedekleri gerekmesi durumunda analiz tekrarları için saklandı. Aşı spesifik nötralizan antikorların saptanması amacıyla gönüllülerden alınacak kan serumunda aşıya karşı oluşan koruyucu antikor miktarı nötralizasyon testi ile belirlendi.

B. Hücreyel İmmün Yanıtın Araştırılması:

1. Aşı spesifik hücreyel immün yanıtın saptanması amacıyla gönüllülerden kan alınarak ticari bir kit ile ELISPOT deneyi yapılarak interferon gamma miktarı belirlendi.



2. Ticari ELISA kitleri ile sitokin paneli- TNF-alpha, IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-5 ve IL-6 – incelendi.

İmmunojenite:

Pozitif antikor cevabı olarak aşılama sonrası, başlangıçtan en az dört katlık bir artış titresi şeklinde tanımlanmıştır. Her grup için antikor seviyeleri aritmetik ortalama, standart sapma, medyan, minimum ve maksimum değerler, geometrik ortalama ve % 95 güven aralığı şeklinde verildi. Gruplar arasında hipotez testi (Student's t-test) 0.05'lik α değeri ile yapıldı. Eğer gruplar arasında istatistiksel olarak fark görülürse ($p < 0.05$), düşük doz ve orta doz grupları arasında karşılaştırma, logaritmik olarak dönüştürülmüş antikor titre değerlere ANOVA analizi uygulandı. (%95 güven aralığı; iki taraflı).

I.VI.II. Güvenlik:

Bu aşı için planlanan güvenlilik parametreleri her aşı uygulamasından sonraki 7 günlük sürede gönüllüler tarafından yaşanan ve tanımlanması istenen tüm advers olaylar ile gönüllü tarafından tanımlanmayan ve araştırmacılar tarafından fiziksel muayene veya laboratuvar testleri veya EKG muayenesi gibi muayeneler sonucunda ortaya çıkan advers olaylar olarak planlanmıştır.

Bu değerlendirmeler, tüm hematolojik ve biyokimyasal parametrelerdeki anomalileri içerecektir. Ayrıca advers olaylar çalışma boyunca, her aşı uygulamasından 24 saat sonrasına kadar klinikte, her uygulamadan sonra bir hafta süreyle her gün ve 14. gün takip vizitlerinde, ayrıca ilk uygulamadan sonra 43. gün ile 2.,3., 4., 5., 6., 8., 10. ve 12. ay yapılacak takip vizitlerinde sorgulandı...

Güvenliliğin uygun bir şekilde izlenebilmesi için, çalışmanın birinci aşamasında düşük doz uygulama grubu'ndaki ilk iki gönüllü aşı uygulamasından sonra 24 saat izlenecek ve Bağımsız veri değerlendirme komitesi tarafından aşı güvenliliğinden emin olunduktan sonra orta doz uygulaması iki başka gönüllüye yapıldı. Bu dört gönüllü de 1 hafta izlendikten sonra aşı +güvenliliğini tehdit eden bir bulgu yok ise, diğer gönüllüler aşılanacak şekilde planlandı.

Çalışma ilgili bilim dallarından oluşacak bağımsız veri izleme komitesince tarafından izlendi.

Bu çalışma, çalışma gönüllülerinden birinin ölümü, yaşamı tehdit eden ve aşya bağlı yaşamı tehdit eden bir ciddi veya ağır advers olay varlığında derhal durdurulması. Ayrıca araştırmacı ve/veya Veri İzleme Komitesi herhangi potansiyel güvenlilik sinyali fark ettiğinde de çalışma durdurulması yönünde planlandı.

Bu çalışmada çalışma durdurma kuralları saptanmıştır. Bu kurallar 3. Derece advers olayların (gönüllü tarafından bildirilen veya araştırmacı tarafından saptanan advers olaylar) üzerine kurulmuştur. Dereceleme şu şekilde planlandı:

Derece 0 Advers olay yok

Derece 1 Advers olay hafif

Derece 2 Advers olay orta şiddette

Derece 3 Advers olay şiddetli



Ayrıca bir genel kural olarak ciddi anafilaksi veya ilk 30 dakika içinde aşırı duyarlılık reaksiyonu durumu, ek olarak ölçülen 39,5°C veya daha yüksek ateş ve genel durum bozukluğu da derece 3 advers olay olarak tanımlandı. Gönüllüler her aşılama sonrası ilk 7 gün boyunca ve sonrasında 14. gün her gün kliniğe gelecek ve özellikle lokal (ağrı, kızarıklık ve şişme) ve genel (ateş, baş ağrısı, gastrointestinal, kardiyovasküler semptomlar, kırıklık hali ile myalji) semptomlar açısından sorgulandı. Ayrıca gönüllüler ilk aşılama sonrası, 43. günde genel bir muayeneden geçirilecek ve genel bir hematolojik ve biyokimyasal parametreler bazında değerlendirildi.

Çalışmayı durdurma kuralı olarak aşağıdaki genel kural tanımlanmıştır:

Aşı uygulamasından sonraki ilk 7 gün içerisinde, araştırmacı tarafından saptanan veya gönüllü tarafından bildirilen herhangi bir 3. derece advers olayın saptanması halinde çalışma durdurulması.

Advers Olaylar tüm çalışma boyunca kaydedilecektir. Son kan örneklerinin 365. günde alınması planlanmıştır. Araştırmacılar her bir advers olay ile nedensellik ilişkisini değerlendireceklerdir. Gönüllüler tarafından bildirilmiş tüm lokal (aşı uygulama yeri ilintili) advers olaylar çalışma aşısı ile İLİNTİLİ olarak kaydedilecektir. Çalışma için gönüllü tarama döneminde yapılan hematolojik ve biyokimyasal parametreler ayrıca idrar muayenesi bir tam seri olarak aşılama öncesi (0. gün) ve ilk aşılama sonrasında (1., 7., 14., 22., 35., 43. gün ayrıca ,2.,3.,4.,5., 6., 8., 10. ve 12. aylarda) tekrarlanması.

İstatistiksel Analiz

Güvenlilik:

İlk aşı dozu sonrası 43. güne kadar advers olay gözlenmiş gönüllü sayısı ve oranı değerlendirilerek ve yüzde olarak raporlandı. Güvenlilik profilleri aşı grupları arasında ve plaseboya karşı diskriptif olarak karşılaştırıldı.

I.VII. Sonuçlar

Gönüllü Dispozisyonu:

44 gönüllüye 3 grup halinde çift kör olarak araştırma ürünleri verildi. Her gönüllüye rastgele sırayla tek bir intramüsküler dozda İnaktive COVID-19 3 µg/0.5 ml Aşı, İnaktive COVID-19 6 µg/0.5 ml Aşı veya 0.5 ml plasebo Aşısı 0. ve 21. günlerde verildi.

Gönüllü No.	İlk Aşılama tarihi
001	05.11.2020
002	06.11.2020
003	13.11.2020
004	14.11.2020
005 – 015	18.11.2020
016 – 020	19.11.2020
021 – 028	20.11.2020
029 – 041	21.11.2020
042 – 044	23.11.2020

Tablo1.1. Faz 1 klinik araştırma gönüllü dizpozisyonu



I.VII. I. Etkinlik Sonuçları:

İmmünojenite;

12 defa aşılanan gönüllüler, 1. aşılamadan sonra olmak üzere aşağıda belirtilen günler sonra ilgili oranlarda pozitif serokonversiyon göstermiştir. Tedaviler arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

	Day 28	Day 35	Day 43
3 µg	60 %	93 %	100 %
6 µg	88 %	100 %	100 %

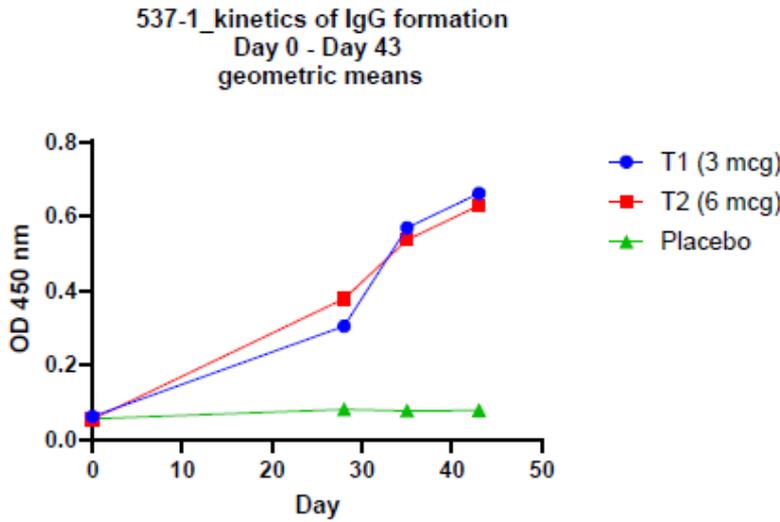
Tablo 1.2 1.aşılama sonrası pozitif serokonversiyon

Aynı sürelerde ortalama IgG değerleri ise aşağıdaki gibidir:

	Day 28	Day 35	Day 43
3 µg	5.0	9.4	10.9
6 µg	7.1	10.0	11.7

Tablo 1.3 1.aşılama sonrası IgG

Plasebo alan gönüllülerde bu süreçte hiç pozitif serokonversiyon görülmemiştir.



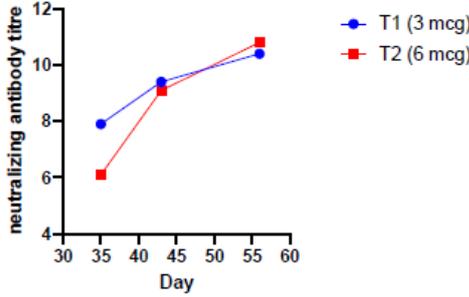
Şekil 1.1 0. Ve 43. Günler pozitif serkonvansiyon

Nötralizan Antikor:

Aşı uygulanan gönüllülerden sadece 5 tanesinde ve plasebo uygulanan hiçbir gönüllüde nötralizan antikor ölçülemedi. Aşı uygulanan toplam 32 gönüllünün 27'sinde, 1. Dozdan 35 gün sonra 2'den yüksek titre ölçülmüştür.



Aşağıdaki figür aşı dozları için nötralizan antikor oluşum kinetiğini göstermektedir. Bu figür 3 mcg dozunun, 6 mcg dozdan aşağı kalır yanı olmadığını göstermektedir.



Şekil 1.2 Aşı dozları için nötralizan antikor oluşum kinetiği

Aynı sürelerde ortalama nötralizan antikor değerleri ise aşağıdaki gibidir:

Treatment	Day 35	Day 43	Day 56
T1 (3 μ g)	9.5 \pm 6.2	9.8 \pm 3.5	11.7 \pm 7.0
T2 (6 μ g)	6.4 \pm 2.4	9.5 \pm 3.2	11.5 \pm 4.1

Tablo 1.4 Nötralizan antikor değerleri-GM

Treatment	Day 35	Day 43	Day 56
T1 (3 μ g)	7.9	9.4	10.4
T2 (6 μ g)	6.1	9.1	10.8

Tablo1.5 Nötralizan antikor değerleri-AM

Çalışmanın geç fazında (2. aydan sonra) gerek IgG gerekse nötralizan antikor değerlerinde azalmalar görülmüştür.

Mikronötralizasyon Testi Sonuçları;

Şekil 5'in dağılım grafiği, mikronötralizasyon (MN) deneyinden elde edilen ayrı serum sonuçlarının dağılımını gösterir. Sonuçlar, hem verum grubu ("Pozitif"; iki aşılama dozu arasında fark yok) hem de plasebo grubu ("Negatif") için nötralizasyon titreleri olarak verilmiştir.

Plasebo ile tedavi edilen gruptan Sera, 35. Günde nötralizasyon titresine sahip değildi.

Aşı ile tedavi edilen deneklerden alınan 32 serumdan 27'si (%84) 35. Günde pozitif bir tepki gösterirken, verum ile tedavi edilen beş denek (%16) (6, 15, 20, 25, 26 numaralı denekler) nötralize edici aktivite eksikliği sergiledi 35. Günde (aşağıdaki Tablo 5 - 6'ya bakınız). 4 – 24 titre aralığında pozitif bir yanıt (%50 CPE inhibisyonu) elde edildi. T1'den (3 μ g) sonra 13 pozitif yanıt veren için elde edilen geometrik ortalama titre 7.9 ve testten sonra 14 pozitif yanıt veren için elde edilen geometrik ortalama titre T2 (6 μ g) 6.1 idi. Bu değerler için istatistiksel bir fark gözlenmedi. 35. Günde nötralize edici antikor titresine olmayan bir denek (no. 25) ayrıca 35. Günde düşük bir ELISA antikor yanıtına sahipti (OD 450 < 4x plasebo yanıtı). Nötralize edici aktiviteye sahip olmayan dört başka denek (no. 6, 15, 20, 26), ELISA ile spesifik antikorların oluşumunu gösterdi, ancak daha düşük aralıkta (OD 450 \leq 5x plasebo).



Sonuç olarak, aşılanmış deneklerden alınan serumların %84'ü, mikronötralizasyon deneyinde pozitif bir yanıt sergiler. Bu genel sonuç, uygulanan iki aşı dozu (3 µg; 6 µg) arasında ayırım yapılmaz.

Table 6: Neutralizing antibody results for T1 = 6 µg

subject no.	Day 35	Titre	Microneutralization
003	1/12	12	T2 = 6 µg
004	1/6	6	
006	0		
010	1/10	10	
015	0		
016	1/6	6	
019	1/6	6	
020	0		
021	1/6	6	
023	1/4	4	
024	1/6	6	
029	1/4	4	
030	1/4	4	
032	1/6	6	
035	1/4	4	
039	1/8	8	
040	1/8	8	
		6.4	arithmetic mean
		6.1	geometric mean titer (GMT)
		14	sample size
		2.38	std.dev.
		0.37	CV

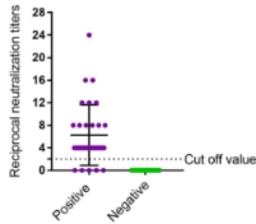


Figure 5: Neutralizing Antibody Titers

Sample Name	day-43	Day56	4 month	Sample Name	day-43	Day56	4 month
V-2	1/8	1/8	NEGATIVE	V-24	1/8	1/8	NEGATIVE
V-3	1/16	1/16	NEGATIVE	V-25	NEGATIVE	NEGATIVE	NEGATIVE
V-4	1/8	1/16	NEGATIVE	V-26	NEGATIVE	NEGATIVE	NEGATIVE
V-6	1/8	1/8	NEGATIVE	V-29	1/8	1/16	NEGATIVE
V-8	1/8	1/8	NEGATIVE	V-30	1/8	1/8	NEGATIVE
V-10	1/16	1/16	NEGATIVE	V-31	1/16	1/16	NEGATIVE
V-14	1/8	1/8	NEGATIVE	V-32	1/8	1/8	NEGATIVE
V-15	1/8	1/8	NEGATIVE	V-33	1/8	1/8	NEGATIVE
V-16	1/8	1/8	NEGATIVE	V-35	1/8	1/8	NEGATIVE
V-17	1/16	1/16	NEGATIVE	V-36	1/8	1/8	NEGATIVE
V-18	1/8	1/16	NEGATIVE	V-38	1/8	1/8	NEGATIVE
V-19	1/8	1/8	NEGATIVE	V-39	1/16	1/16	NEGATIVE
V-20	NEGATIVE	NEGATIVE	NEGATIVE	V-40	1/8	1/16	NEGATIVE
V-21	1/8	1/16	NEGATIVE	V-41	1/8	1/8	NEGATIVE
V-22	1/16	1/32	1/8	V-42	1/8	1/8	NEGATIVE
V-23	1/8	1/8	NEGATIVE	V-43	1/8	1/8	NEGATIVE

Table 7: Neutralizing antibody results for Day 43, Month 2 and Month 4

Table 8: Neutralizing Antibodies (reciprocal titre) after 2nd vaccination, evaluated by MN Assay, dose 3 mcg (T1)

Descriptive Statistics	Day 35 post 1st dose	Day 43 (post 1st dose)	Day 56 (post 1st dose)	Month 4 (post 1st dose)
Arithmetic mean	9.5	9.8	11.7	8 (n = 1)
Standard deviation	6.2	3.5	7.0	n.d.
Number	13	13	13	1
Minimum	4	8	8	8
Maximum	24	16	32	8
Geometric mean	7.9	9.4	10.4	8 (n = 1)

*Values of Day 35 taken from previous evaluation

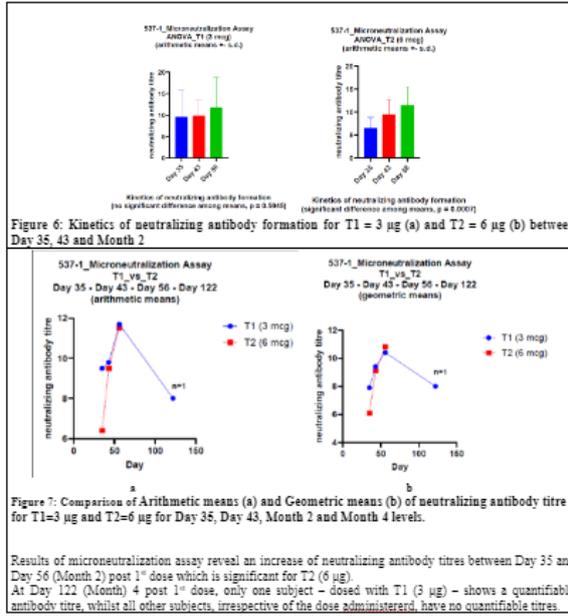
Table 9: Neutralizing Antibodies (reciprocal titre) after 2nd vaccination, evaluated by MN Assay, dose 6 mcg (T2)

Descriptive Statistics	Day 35 post 1st dose	Day 43 (post 1st dose)	Day 56 (post 1st dose)	Month 4 (post 1st dose)
Arithmetic mean	6.4	9.5	11.5	n.d.
Standard deviation	2.4	3.2	4.1	n.d.
Number	14	16	16	0 (all negative)
Minimum	4	8	8	n.d.
Maximum	12	16	16	n.d.
Geometric mean	6.1	9.1	10.8	n.d.

*Values of Day 35 taken from previous evaluation

Şekil 1.3 Nötralizan antikor tablo ve titresi

Şekil 1.4 Nötralizan antikor tablolar(35.gün,43. Gün ,56.gün, 4.ay)



Şekil 1.5 35.gün, 43.gün, 56.gün, 2.ay,4.ay grafik ve GM, AM eğrileri

İmmüno Floresan Antikor Testi; ERUCOV-VAC (inaktif virüs aşısı) ile 1. aşılama sonrası 0. Gün ve 35. Günde alınan faz I çalışma gönüllülerinden alınan serumlarda spesifik antikorların araştırılması için immüno floresan uygulandı.

VERO hücreleri, 96 kuyucuklu plakalarda verildi ve 1 saat süreyle 37°C'de 100 FFU (Odak Oluşturma Birimi) SARS-CoV-2 virüs süspansiyonu ile işlendi. Bu sürenin ardından süpernatantlar uzaklaştırılmış ve hücreler %5 CO₂ içeren nemli atmosferde 37°C'de 48 saat boyunca %1 CMC (karboksimetilselüloz) ile kaplanmıştır. Hücreler daha sonra %10 formaldehit solüsyonu ile sabitlendi, ardından Triton X-100 içeren PBS tamponu ile geçirgenleştirildi. % 5 süt tozu içeren PBS ile bloke edildikten sonra 0. Gün ve 43. Gün alınan ve primer antikorlar içeren serumlar TBST tamponu ile 1:150 oranında seyreltildi ve hücrelere 1 saat süreyle eklendi, ardından 3 yıkama, 1:1000 oranında seyreltildi. İkincil antikor (konjuge keçi-anti-insan IgG-FITC) ve 1 saat daha fazla reaksiyon. Virüse bağlı antikor kompleksleri daha sonra bir immün floresan mikroskopu ile analiz edildi.

Sonuçlar; Plasebo ile tedavi edilen tüm gönüllülerin (no. 5, 7, 9, 11, 12, 13, 27, 27, 34, 37) 43. gün serumları negatifti, oysa tüm Günlerde anti-SARS-CoV-2 spesifik antikorlar bulundu. Aşı ile tedavi edilen gönüllülerden 43 serum. Kalitatif bir temelde, T1 = 3 µg doz ve T2 = 6 µg dozdan elde edilen serumlar arasında belirgin bir fark bulunamamıştır.

I.VII.II. Güvenlik Sonuçları:

Güvenlik değerlendirmesi, her dozdan önce 0. saatte (doz uygulamadan önceki 60 dakika içinde), 2. saat, 4. saat, 8. saat, 12. saat ve 24. saatlerde, 3., 4., 5., 6., 7. ve 14. Günlerde ve her aşı uygulamasından sonra 43. Günde gerçekleştirilmiştir. İlk uygulama. Ayrıca 1, 7, 14, 21, 22, 28, 35, 43. Günler ile 2, 3, 4, 5, 6, 8. Aylarda tarama sırasında ve uygulama sonrasında laboratuvar



güvenlik verilerinin incelenmesi için kan örnekleri alınmıştır. Son gönüllünün 43. gününde, çalışma protokolüne göre bir ara güvenlik değerlendirmesi yapılmıştır.

05.01.2021 kesme gününe kadar ciddi veya ciddi bir advers olay görülmedi. En önemli advers olay, ilk aşılama (23.11.2020) 15 gün sonra, 08.12.2020 tarihinde alınan COVID-19 RT-PCR pozitif testi olarak bir gönüllüde görülmüştür. Pozitif test, ertesi gün (09.12.2020) yapılan tekrar COVID-19 RT-PCR testi ile doğrulandı. Aşılama öncesi 18.11.2020 tarihinde yapılan ilk COVID-19 RT-PCR testi negatif çıktı. İlk aşılama sonrası 7. ve 14. günde yapılan güvenlik kan laboratuvarı sonuçlarının normal referans aralıklarından bazı sapmalar gösterdiği gözlemlendi, ancak bunlar Araştırmacılar tarafından Klinik Olarak İlgili Değil (NCR) olarak değerlendirildi. Yalnızca WBC'nin 07.12.2020 tarihindeki düşüşü Klinik Olarak İlgili olarak not edildi ve Araştırmacının bu testi tekrarlaması gerekti. 10.12.2020 tarihinde yapılan tekrar testi, WBC'nin referans aralığında normal sonuçlar gösterdi. Bu gönüllü için kod ilk aşılamanın 17. gününde (10.12.2020) kırıldı ve bu deneğin ERUCOV-VAC 3 µg/0.5 ml Aşı (0.5 ml içinde 3 µg inaktive COVID-19 virüsü içeren) aldığı görüldü. ilk yönetim gününde. Advers olayın ilaca olan ilişkisi, Araştırmacı tarafından “Muhtemel olmayan” olarak değerlendirilmiştir. Yukarıda belirtilen COVID-19 RT-PCR pozitif testi dışında, ilk aşılama sonrası 44 kişiden 9'unda (%16) ve 43 kişiden 2'sinde (%5) en fazla görülen yan etki enjeksiyon bölgesinde ağrıydı.) ikinci aşılama sonrası. Ayrıca çalışma sırasında enjeksiyon bölgesinde şişlik, baş ağrısı, sol palmar bölgede parestezi, panik atak ve taşikardi görüldü. Çalışma sırasında “derece 3” olarak değerlendirilebilecek “şiddetli” Advers İlaç Reaksiyonu (ADR) bildirilmemiştir. Advers olayların çoğu (18/23) “derece 1 (hafif)” olarak değerlendirildi ve geri kalan advers olaylar – COVID-19 RT-PCR pozitif testi dahil – (5/23) “derece 2 (orta) olarak değerlendirildi.)”. Aşağıda, her gönüllünün çalışmanın başlangıcından 43. Güne kadar advers olayları içeren ayrıntılı bir tablo verilmiştir.



Tablo 1.6: Çalışmanın ilk 43 gününde görülen advers olayların ürünler bazında dağılımı:

Drug Relationship	Adverse Event (no. AE)	Adverse Events by Treatment at Onset of AE		
		Treatment T1 (3 µg/0.5 ml Vaccine)	Treatment T2 (6 µg/0.5 ml Vaccine)	Placebo (NaCl 0.9 % / 0.5 ml)
possible	pain and/or swelling at the injection site (10)	5	5	0
possible	headache (6)	2	4	0
unlikely	headache (1)	1	0	0
unlikely	weakness (3)	1	2	0
unlikely	positive PCR-COVID-19 test (2)	2	0	0
unlikely	arthralgia (2)	1	1	0
unlikely	cough (2)	1	1	0
unlikely	urinary tract infection (1)	0	1	0
possible	paraesthesia in left palmar site (1)	1	0	0
unlikely	toothache (1)	1	0	0
unlikely	trauma to right second finger (1)	0	1	0
unlikely	tinnitus (1)	0	1	0
unlikely	muscle pain (1)	0	1	0
unlikely	runny nose (1)	0	1	0
unlikely	dizziness (1)	1	0	0
unlikely	vomiting (1)	1	0	0
unlikely	chill (1)	0	1	0
unlikely	sore throat (1)	1	0	0
unlikely	panick attack (1)	0	1	0
unlikely	tachycardia (1)	0	1	0



Tablo 1.7 Çalışmanın ilk 43 gününde en sık görülen advers olayların görülme oranı

Type of ADR/AE	Placebo (n = 10)	Vaccine dose 3 µg (n = 17)	Vaccine dose 6 µg (n = 17)	p-value (chi- square test)
Injection Site Adverse Drug Reactions				
Pain/sensitivity at injection site	0	5 (5/17; 29.4 %)	5 (4/17; 23.5 %)	n.s. (p = 0.1730)
Systemic Reactions				
Headache	0	2 (2/17; 11.8 %)	4 (2/17; 11.8 %)	n.s. (p = 0.5236)
Positiv PCR test	0	1 (1/17; 5.9 %)	0	n.a.
Toothache	0	1 (1/17; 5.9 %)	0	n.a.
Urinary tract infection	0	0	1 (1/17; 5.9 %)	n.a.
Paresthesia left palmar site	0	1 (1/17; 5.9 %)	0	n.a.
Panic attack	0	0	1 (1/17; 5.9 %)	n.a.
Tachycardia	0	0	1 (1/17; 5.9 %)	n.a.
Dizziness	0	1 (1/17; 5.9 %)	0	n.a.
Vomiting	0	1 (1/17; 5.9 %)	0	n.a.
Weakness	0	1 (1/17; 5.9 %)	0	n.a.

n.s.: not significant (p > 0.05) between T1 (3 µg), T2 (6 µg) and Placebo (chi-square test; n.a.: not applicable)

Tablo 1.8 Çalışmanın ilk 43 gününde görülen advers olayların ciddiyeti ve görülme oranı

Classification of AE / ADR	ERUCOV-VAC 3 µg/0.5 ml (n=17 subjects)	ERUCOV-VAC 6 µg/0.5 ml (n=17 subjects)	Overall AE / ADR (n = 44 subjects)	p-value (Fisher's exact test) 3 µg vs 6 µg
any grade ADR/AE	13 (13/17; 76.5 %)	12 (9/17; 52.9 %)	25 (22/44; 50.0 %)	n.s. (p = 0.2818)
grade 1 (mild)	11 (11/17; 64.7 %)	9 (8/17; 47.1 %)	20 (19/44; 43.2 %)	n.s. (p = 0.4905)
grade 2 (moderate)	2 (2/17; 11.8 %)	3 (1/17; 5.9 %)	5 (3/44; 6.8 %)	n.s. (p > 0.9999)

I.VII.III Genel Sonuç:

ERUCOV-VAC'ın her iki dozu da sağlıklı gönüllülerde iyi tolere edilmiş olup yeteri kadar immunojenite oluşturduğu gözlemlenmiştir. Her iki doz ile birlikte görülen advers olayların oranı benzer bulunmuştur.

Aşının her iki dozu sonrasında oluşan hümorale immün cevaplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu çalışmanın örneklem büyüklüğü yeteri kadar büyük olmadığından dolayı çalışmadan elde edilen p değerlerinin kuvvetli bir istatistiksel sonuç veremeyeceğini unutmamak gerekmektedir. İstatistiksel açıdan daha kuvvetli sonuçlar elde edebilmek için, daha yüksek örneklem büyüklüğüne sahip Faz 2 çalışması yürütülmesi gerekmektedir.



II-TURKOVAC KLİNİK ARAŞTIRMALARI

FAZ II



II-TURKOVAC KLİNİK ARAŞTIRMASI-FAZ II

II.I Çalışma Başlığı:

“Hücre kültüründe hazırlanan iki farklı yitilikte inaktif COVID 19 Aşısı ERUCOV- VAC’ın, sağlıklı gönüllülere intramusküler yoldan iki kez uygulamasının etkililiğinin, immunojenitesinin ve güvenliliğinin incelendiği, plasebo kontrollü, randomize, çift kör, tek merkezli, Faz II klinik araştırması”

II.II. Çalışma Kodu:

Protokol Kodu: IDEAL00620-EU02-PK537-3

TÜSEB Kodu: TSB-VAC-COV-ERU-F2.0B

II.III. Çalışmanın Yapıldığı Merkezler ve Araştırmacı Bilgileri:

II.III. I. Koordinatör Merkez:

Kayseri Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hakan Çetinsaya İyi Klinik Uygulama ve Araştırma Merkezi,

II.III.II. Koordinatör Araştırmacı:

Dr. Gamze Kalın Ünüvar

II.III.III. Çalışmanın Yapıldığı Diğer Merkezler ve Sorumlu Araştırmacıları:

Çalışma tek merkezde gerçekleştirilmiştir. Sorumlu Araştırmacısı Dr. Gamze Kalın Ünüvar’dır.

II.IV. Çalışmada Kullanılan Ürünler:

Karşılaştırma ürünü /yöntemi Plasebo; Plasebo Aşı ile eşit miktarda (0.5 ml) kas içine %0.9 salin (NaCl) kullanılacaktır. Plasebo ürün Koçak Farma İlaç ve Kimya Sanayi A.Ş.’nin, Organize Sanayi Bölgesi Fatih Cad. 11. Sok. D:3, Çerkezköy / Tekirdağ adresindeki tesislerinde üretildi.

II.V. Çalışma Dizaynı:

Araştırma kolları

- I. Kol: ERUCOV-VAC 3 µg / 0.5 ml Aşısı (inaktif covid 19 aşısı) gönüllü grubuna 3 µg dozda intramusküler olarak 0 ve 21. günlerde olmak üzere 2 kez uygulanacaktır.
- II. Kol: ERUCOV-VAC 6 µg / 0.5 ml Aşısı (inaktif covid 19 aşısı) gönüllü grubuna 6 µg dozda intramusküler olarak 0 ve 21. günlerde olmak üzere 2 kez uygulanacaktır.
- III. Kontrol(plasebo) grubuna ise 0.5 ml %0.9 salin intramusküler olarak 0 ve 21. günlerde olmak üzere 2 kez uygulanacaktır.



II.V.I. Çalışmanın Amacı:

Araştırmanın amacı: Bu çalışmanın primer amacı, yeni geliştirilen inaktif covid 19 aşısının etkililik ve immünojenitesini ve sekonder olarak da güvenliliğini göstermektir. Araştırmanın kapsamı: Etkililik, immünojenite ve güvenlilik

II.V.II. Çalışmanın Süresi:

Araştırma süresi: Toplam Gönüllü temini ile birlikte yaklaşık olarak 16 ay

Etik Komite Onay Tarihi: 01.02.2021

TİTCK Onay Tarihi: 04.02.2021

İlk Gönüllü Alım Tarihi (Araştırmanın başlangıcı); 05.02.2021 ilk gönüllü 10.02.2021 tarihinde alındı.

Son Gönüllü Alım Tarihi; 05.06.2021

Sonlanım noktası: 259 gönüllüye ulaşmasıyla ve Nisan 2021 tarihinde 2.dozlarında tamamlanmasıyla veriler yerel komite onayıyla daha geniş yan etki ve aşı etkinliği değerlendirilmesi için faz 3 klinik araştırmasına geçildi. Son gönüllünün alınmasından 1 sene sonra tamamlandı.

II.VI. Çalışma Metodolojisi:

Klinik Araştırmanın Sonuçların Değerlendirmesi Planı/Metadolojisi

II.VI. I. Etkinlik:

İmmünojenite:

Bu inceleme humoral ve hücresel düzeyde immün cevaplar bazında her aşılama sonrası yapıldı. Bu cevapların aşılama sonrası 12 ay içindeki kalıcılığının incelenmesi ise, aşılama sonrası 12. aya kadar sürdürüldü. Bu amaçla aşı uygulaması yapılacak günlerde (0., 21. günlerde) aşılama öncesi (pre-doz), ve ilk aşılama sonrası, 7, 14, 21, 28, 35, 43. günde ayrıca 2., 4., 6., 8., 10. ve 12. aylarda kan numuneleri alınarak ve aşağıda belirtilen immünolojik incelemeler gerçekleştirildi. Antikor titresinin temel değerlendirme parametresi 43. gün alınan kan numunesinde değerlendirildi.

İmmünolojik değerlendirme iki temel kriter üzerinden yapılması planlandı. Bu parametreler üzerinden yapılan değerlendirmeler, çalışmanın farmakolojik/farmakodinamik etkilerini incelemeye yönelik bölümleri oluşturmaktadır.

A. Humoral İmmün cevabın saptanması:

1. Aşı spesifik IgG yanıtının saptanması amacıyla gönüllülerden alınacak kan serumunda aşıya karşı oluşacak IgG yanıtı ELISA kiti ile belirlendi. Ayrıca alınan örneklerin yedekleri gerekmesi durumunda analiz tekrarları için saklanmıştır. Aşı spesifik nötralizan antikorların saptanması amacıyla gönüllülerden alınacak kan serumunda aşıya karşı oluşan koruyucu antikor miktarı nötralizasyon testi ile belirlendi.

B.Hücresel İmmün Yanıtın Araştırılması:



1. Aşı spesifik hücresel immün yanıtın saptanması amacıyla gönüllülerden kan alınarak ticari bir kit ile ELISPOT deneyi yapılarak interferon gamma miktarı belirlendi. Ticari ELISA kitleri ile sitokin paneli - TNF-alpha, IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-5 ve IL-6 – incelenmiştir.

II.VI.II. Güvenlik:

Bu aşı için planlanan güvenlilik parametreleri her aşı uygulamasından sonraki 7 günlük sürede gönüllüler tarafından yaşanan ve tanımlanması istenen tüm advers olaylar ile gönüllü tarafından tanımlanmayan ve araştırmacılar tarafından fiziksel muayene veya laboratuvar testleri gibi muayeneler sonucunda ortaya çıkan advers olaylar olmaktadır.

Bu değerlendirmeler, tüm hematolojik ve biyokimyasal parametrelerdeki anomalileri içerir. Ayrıca advers olaylar çalışma boyunca, her aşı uygulamasından 20 dakika sonrasında klinikte, her uygulamadan sonra 5 gün süreyle telefonla, 7. ve 14. gün takip vizitlerinde, ayrıca ilk uygulamadan sonra 43. gün ile 2., 4., 6., 8., 10. ve 12. ay yapılacak takip vizitlerinde sorgulanmıştır. Çalışma ilgili bilim dallarından oluşacak bağımsız veri izleme komitesince izlenmiştir.

Bu çalışma, çalışma gönüllülerinden birinin ölümü, yaşamı tehdit eden ve aşıya bağlı yaşamı tehdit eden bir ciddi veya ağır advers olay varlığında derhal durdurulacaktır. Ayrıca araştırmacı ve/veya Veri İzleme Komitesi herhangi potansiyel güvenlilik sinyali fark ettiğinde de çalışmanın durdurulması planlanmıştır.

Bu çalışmada çalışma durdurma kuralları saptanmaktadır. Bu kurallar 3. derece advers olayların (gönüllü tarafından bildirilen veya araştırmacı tarafından saptanan advers olaylar) üzerine kurulmuştur. Dereceleme şöyle yapılmıştır:

Derece 0	Advers olay yok
Derece 1	Advers olay hafif
Derece 2	Advers olay orta şiddette
Derece 3	Advers olay şiddetli

Ayrıca bir genel kural olarak ciddi anafilaksi veya ilk 30 dakika içinde aşırı duyarlılık reaksiyonu durumu, ek olarak ölçülen 39.5°C veya daha yüksek ateş ve genel durum bozukluğu da derece 3 advers olay olarak tanımlanmıştır.

Gönüllüler her aşılama sonrası 7. gün ve 14. gün kliniğe gelecek ve özellikle lokal (ağrı, kızarıklık ve şişme) ve genel (ateş, baş ağrısı, gastrointestinal, kardiyovasküler semptomlar, kırıklık hali ile myalji) semptomlar açısından sorgulanacaklardır. Ayrıca gönüllüler ilk aşılama sonrası, 43. günde genel bir muayeneden geçirilecek ve genel bir hematolojik ve biyokimyasal parametreler bazında değerlendirilmiştir.

Çalışmayı durdurma kuralı olarak aşağıdaki genel kural tanımlandı:

Aşı uygulamasından sonraki ilk 7 gün içerisinde, araştırmacı tarafından saptanan veya gönüllü tarafından bildirilen herhangi bir 3. derece advers olayın saptanması halinde çalışma durdurulması yönünde planlandı.



Advers Olaylar tüm çalışma boyunca kaydedilecektir. Son kan örneklerinin 365. günde alınması planlandı. Araştırmacılar her bir advers olay ile nedensellik ilişkisini değerlendireceklerdir. Gönüllüler tarafından bildirilmiş tüm lokal (aşı uygulama yeri ilintili) advers olaylar çalışma aşısı ile İLİNTİLİ olarak kaydedilmiştir. Çalışma için gönüllü tarama döneminde yapılan hematolojik ve biyokimyasal parametreler ayrıca idrar muayenesi bir tam seri olarak aşılamaya öncesi (0. gün) ve ilk aşılamaya sonrasında 7., 14., 28., 35., 43. Gün ayrıca ,2., 4., 6., 8., 10. ve 12. aylarda tekrarlanmıştır.

İmmunojenite:

Pozitif antikor cevabı olarak aşılamaya sonrası, başlangıçtan en az dört katlık bir artış titresini şeklinde tanımlanmıştır. Her grup için antikor seviyeleri ve periferik kan mononükleer hücrelerden salınan sitokinler için aritmetik ortalama, standart sapma, medyan, minimum ve maksimum değerler, geometrik ortalama ve % 95 güven aralığı şeklinde verilecektir. Gruplar arasında hipotez testi (Student's t-test) 0.05'lik α değeri ile yapılacaktır. Eğer gruplar arasında istatistiksel olarak fark görülürse ($p < 0.05$), düşük doz ve orta doz grupları arasında karşılaştırma, logaritmik olarak dönüştürülmüş antikor titre değerlerine ANOVA analizi uygulanacaktır (% 95 güven aralığı; iki taraflı).

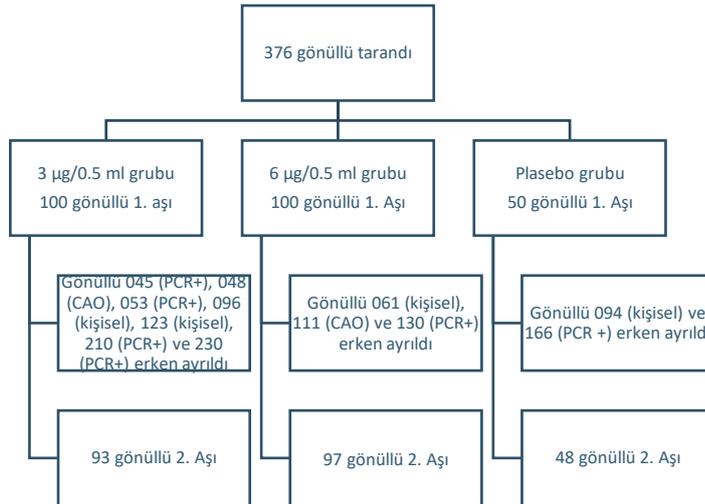
İstatistiksel analiz

Güvenlilik:

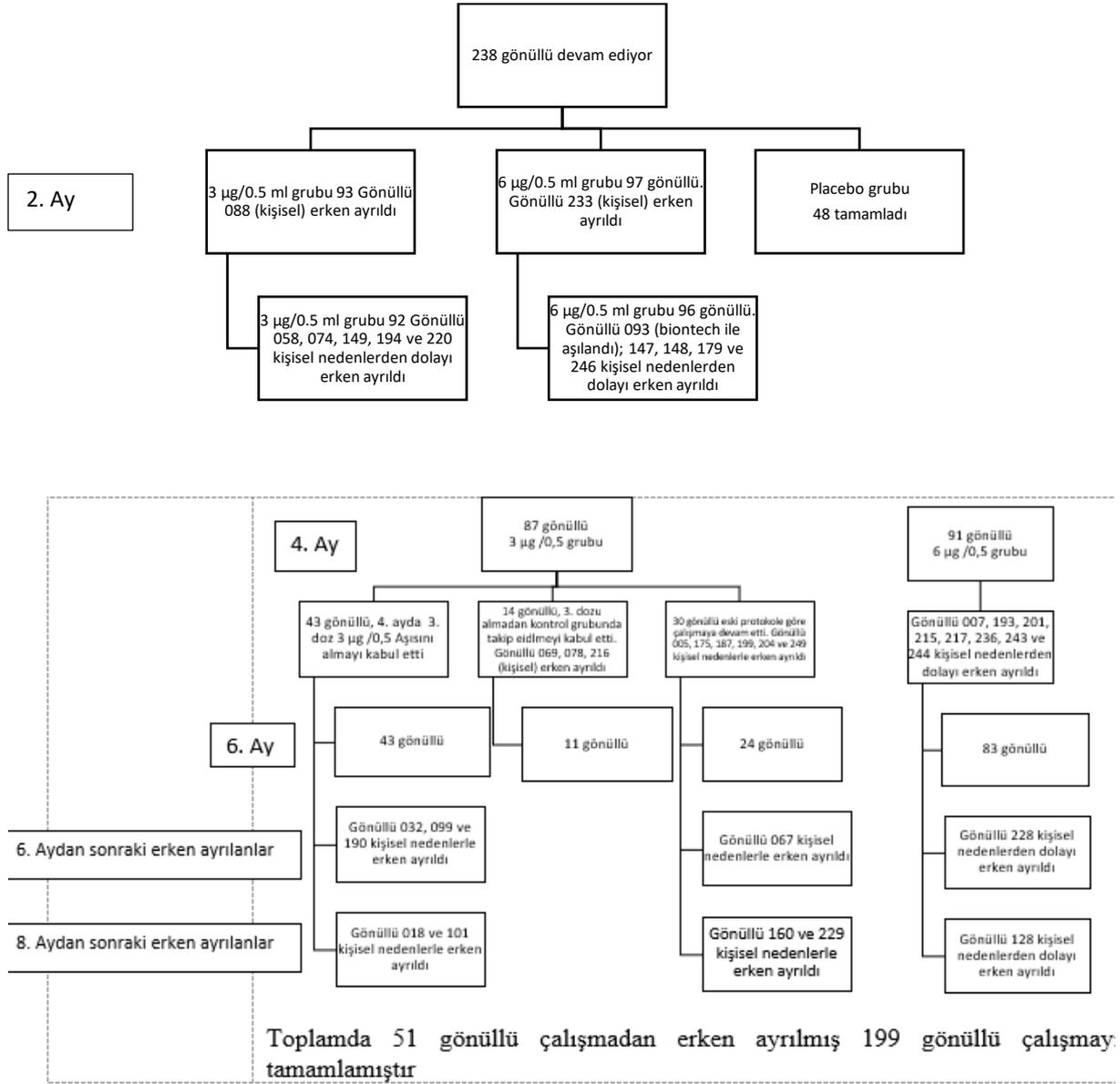
1.aşılamadan sonraki 43. güne kadar advers olay gözlenmiş gönüllü sayısı ve oranı değerlendirilecek ve yüzde olarak raporlanacaktır. Güvenlilik profilleri aşı grupları arasında ve plaseboya karşı diskriptif olarak karşılaştırılacaktır.

II.VII. Sonuçlar:

Gönüllü Dispozisyonu:



Şekil 2.1 Faz 2 gönüllü dispozisyonu



Şekil 2.2 Faz 2 gönüllü dispoziyonu 43.gün ara değerlendirme

II.VII. I. Etkinlik Sonuçları:

İmmünojenisite; Ara değerlendirme 43. günde yapılmıştır:14, 28 ve 43. günlerde ELISA bağlı IgG serokonversiyon gösteren gönüllü yüzdesi

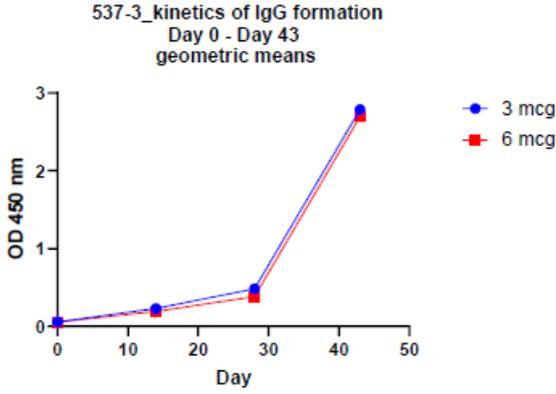
Tablo 2.1’de analitik sonuçlar ise şekil 2.3’te gösterilmektedir:

Tablo 2.1: Aşı dozlarına göre 14, 28 ve 43. günlerde ELISA bağlı IgG serokonversiyon gösteren gönüllü yüzdeleri			
Doz / Gün	Gün 14	Gün 28	Gün 43
3 µg	% 36	% 82	% 100
6 µg	% 33	% 78	% 100

*Plasebo için anlamlı bir IgG artışı ölçülmemiştir.

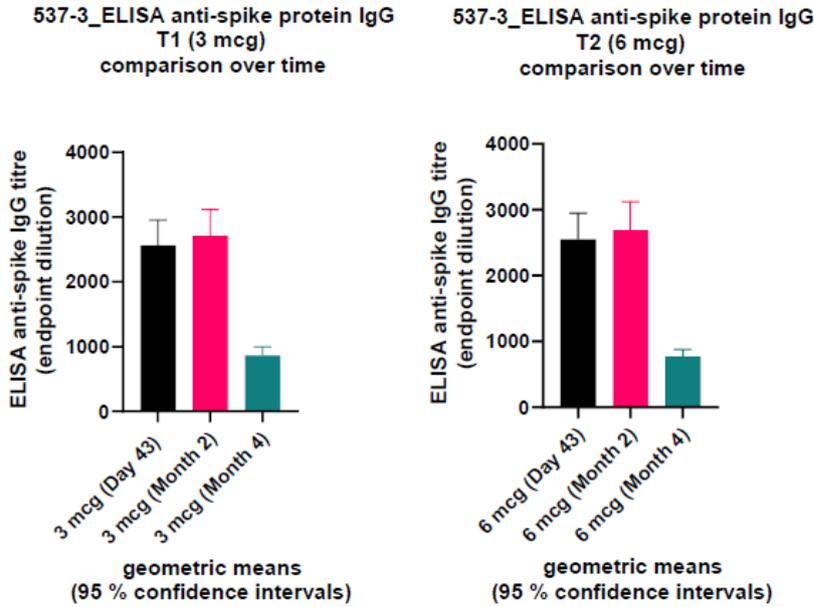


Dozlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir.



Şekil 2.3 aşı dozlarına göre analitik sonuç

Plazmada ölçülen IgG miktarları 2. aya kadar artış göstermiş ve sonrasında düşüşe geçmiştir. İlgili düşüş şekil 2.4'de gösterilmektedir. Yine dozlar arasında anlamlı bir fark gözlenmiştir.

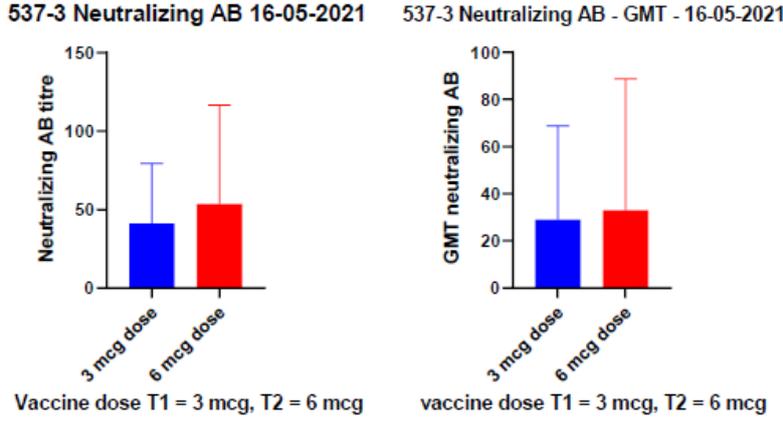


Şekil 2.4 Plazmada ölçülen IgG'nın zamana karşı ölçülen miktar grafiği

43.günde Mikronötralizasyon yöntemi ile nötralizan antikor açısından serokonversiyon gösteren gönüllü yüzdesi tablo 2.2'de analitik sonuçlar ise şekil 2.5'de gösterilmektedir:

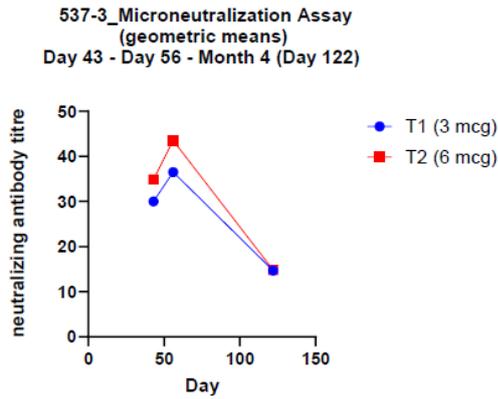
Tablo 2.2: Aşı dozlarına göre 14, 28 ve 43. günlerde ELISA bağlı IgG serokonversiyon gösteren gönüllü yüzdeleri	
Doz / Gün	Gün 43
3 µg	% 94.6
6 µg	% 99.0

*Dozlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir.



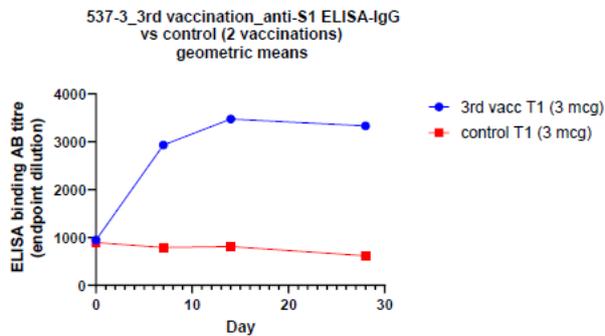
Şekil 2.5 43. günde nötralizan antikor oluşumu

Nötralizan Antikorların plazmada ölçülen miktarları 2. aya kadar artış göstermiş ve sonrasında düşüşe geçmiştir. İlgili düşüş figür 4’de gösterilmektedir. Yine dozlar arasında anlamlı bir fark gözlenmiştir.



Şekil 2.6 Nötralizan Antikorların zamana karşı ölçülen miktar grafiği

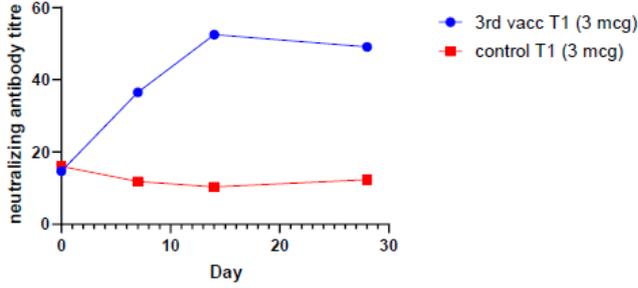
4. ayda, kabul eden gönüllülere uygulanan 3. 3µg/0,5 ml aşısından sonra, kontrol grubuna göre aşı uygulanan grupta hem IgG (şekil 2.7) hem de nötralizan antikor (şekil 2.8) istatistiksel açıdan anlamlı artışlar gözlenmiştir.



Şekil 2.7 4. ayda booster aşı yapılan gönüllülere karşı yapılmayan gönüllülerin plazmalarında IgG miktarı



537-3_3rd vaccination_vs_control (2 vaccinations)
geometric means



Şekil 2.8 4. ayda booster aşı yapılan gönüllülere karşı yapılmayan gönüllülerin plazmalarında nötralizan antikor miktarı

Çalışmanın sonraki aşamalarında özellikle sadece 2 doz alan gönüllülerde antikor oranları hem IgG hem de nötralizan antikorlar için hızlı bir şekilde düşüş göstermiştir.

II.VII. II. Güvenlilik Sonuçları:

1. ve 2. aşılamalardan sonra 14 güne kadar toplam 244 advers olay kaydedilmiştir. Bunlardan 3'ü ciddi advers olay (kayak sırasında düşme, kalp krizi ve COVID-19 enfeksiyonu) olarak gözlenmiştir. COVID-19 enfeksiyonu tam iyileşme gösterirken, kayak sırasında düşen gönüllünün tedavisi devam etmekte, kalp krizi geçiren gönüllü ise ölmüştür. Bu aşamada çalışmaya devam edip etmemek konusunda Etik Kurul ve TİTCK'nın fikri alınmış olup, çalışmanın devamına karar verilmiştir. Ciddi advers olayların dışında, bu süre zarfında en sık görülen advers olay olan enjeksiyon bölgesinde ağrı (23 adet), plasebo alan gönüllülerde gözlenmemiştir. Bunun dışında gönüllülerde % 2'den büyük oranda görülen advers olaylar başağrısı, güçsüzlük, mide bulantısı, artralji, yorgunluk, diş ağrısı ve baş dönmesi olmuştur.

Çalışmanın 43. gününden sonra 2 tane daha ciddi advers olay (böbrek taşı ve yüksekten düşme nedeniyle ayak bileğinin kırılması ve görülmüştür. Her iki durumda da gönüllülere uygulanan araştırma ürünleri birincil sorumlu olarak tespit edilmemiştir.

3. doz aşından 2 ay sonrasına kadar, booster aşığı alan gönüllülerde toplam 16 yan etki görülmüştür.

Çalışma sonuna kadar toplam 250 gönüllüden 149'unda 425 advers olay kaydedilmiştir.

Yukarıda belirtilen 2 ciddi advers olay (kayak sırasında düşme, kalp krizi) dışında tüm advers olaylar sekel bırakmaksızın iyileşmiştir. Bunlara ek olarak 2 gönüllü COVID-19 enfeksiyonu sonrasında PCR testlerinin tekrarlanması için kliniğe geri dönmemiştir. O nedenle PCR testlerinin negatife dönüp dönmediği bilinmemektedir. İlk 43 günde görülen advers olayları gösteren tablo 2.3 aşağıda verilmektedir.



Tablo 2.3 İlk 43.günde görülen advers olaylar

	Placebo group (n = 50 subjects)	Vaccine group T1 (low dose, 3 mcg) (n = 100 subjects)	Vaccine group T2 (medium dose, 6 mcg) (n = 100 subjects)	Total ADR/AE // (no. subjects and percentage of 250 in total)
All ADR / AE recorded within 14 days after 1st and 2nd Vaccination				
	Placebo	Treatment T1	Treatment T2	
any	37	92	115	244
grade 1	16	33	35	84
grade 2	21	59	79	159
grade 3	0	0	1	1
Injection site ADR / AE recorded within 14 days after 1st and 2nd Vaccination				
pain at inj. site	0	13	10	23 // 21 (8.4 %)
swelling*	1	3	2	6 // 5 (2.0 %)
numbness**	1	0	4	5 // 4 (1.6 %)
Systemic ADR / AE recorded within 14 days after 1st and 2nd Vaccination				
headache	16	17	19	52 // 47 (18.8 %)
weakness	5	17	16	38 // 34 (13.6 %)
positive PCR test	2	1	2	5 // 5 (2.0 %)
sore throat	0	3	2	5 // 5 (2.0 %)
nausea	0	2	7	9 // 8 (3.2 %)
dizziness	3	2	5	10 // 6 (2.4 %)
fatigue	0	4	3	7 // 7 (2.8 %)
arthralgia	2	3	3	8 // 8 (3.2 %)
toothache	0	3	4	7 // 7 (2.8 %)
muscle pain	1	2	2	5 // 5 (2.0 %)
neck pain	0	2	3	5 // 5 (2.0 %)
runny nose	0	1	2	3 // 3 (1.2 %)
metallic taste	1	1	2	4 // 4 (1.6 %)
fever	0	3	2	5 // 4 (1.5 %)
fever with chill	0	0	2	2 // 2 (<1 %)
flu	0	0	2	2 // 2 (<1 %)
diarrhea	0	1	2	3 // 3 (1.2 %)
abdominal pain	0	0	2	2 // 2 (<1 %)
cough	1	0	0	1 // 1 (<0.5 %)
chill	0	2	1	3 // 3 (1.2 %)
light dizziness	0	2	0	2 // 1 (<0.5 %)
low back pain	0	0	2	2 // 2 (<1 %)
upper airway infection	0	0	1	1 // 1 (<0.5 %)
somnolence	0	0	2	2 // 2 (<1 %)
myalgia	0	1	1	2 // 2 (<1 %)
myocardial infarction	0	0	1	1 // 1 (<0.5 %)
gastric pain	0	0	1	1 // 1 (<0.5 %)
stomach burning	0	1	0	1 // 1 (<0.5 %)
left shoulder pain	1	0	0	1 // 1 (<0.5 %)
bilateral shoulder pain	0	0	1	1 // 1 (<0.5 %)
right leg pain	0	0	1	1 // 1 (<0.5 %)
left arm pain	0	0	1	1 // 1 (<0.5 %)
back pain	0	0	1	1 // 1 (<0.5 %)
chest pain	0	0	1	1 // 1 (<0.5 %)
cervical pain	0	1	0	1 // 1 (<0.5 %)
dyspnoe	0	0	1	1 // 1 (<0.5 %)
ear ache	0	1	0	1 // 1 (<0.5 %)
fullness in the ear	1	0	0	1 // 1 (<0.5 %)
howling in the ear	1	0	0	1 // 1 (<0.5 %)
itching in the eye	0	1	0	1 // 1 (<0.5 %)
vertigo	0	1	0	1 // 1 (<0.5 %)
pain rib fracture	0	1	0	1 // 1 (<0.5 %)
rib fracture	0	1	0	1 // 1 (<0.5 %)
falling during skiing	0	1	0	1 // 1 (<0.5 %)
stiffness	0	1	0	1 // 1 (<0.5 %)
ingrown nails (r.f.)	0	1	0	1 // 1 (<0.5 %)
sneeze	0	0	1	1 // 1 (<0.5 %)
postnasal drop	0	0	1	1 // 1 (<0.5 %)
pharyngitis	0	0	1	1 // 1 (<0.5 %)



II.VII.III Genel Sonuç :

ERUCOV-VAC'ın her iki dozu da sağlıklı gönüllülerde iyi tolere edilmiş olup 18 – 62 yaş aralığında yeteri kadar immunojenisite oluşturduğu gözlemlenmiştir. Her iki doz ile birlikte görülen advers olayların oranı benzer bulunmuştur.

Aşının her iki dozu sonrasında oluşan hüüoral immün cevaplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Ürünün geliştiricisi ve analitik merkez sorumlusu olan Prof. Özdarendeli ile yardımcı araştırmacı Doç. Dr. Sezer ara değerlendirme verilerinden sonra, faz 3 çalışmasına 3 µg/0.5 ml yitiliği ile devam edilebileceği konusunda karar kılmıştır.

EK-3: TURKOVAC Faz 1 ve Faz 2 Makalesi “*Safety and immunogenicity of an inactivated whole virion SARS-CoV-2 vaccine, TURKOVAC, in healthy adults: Interim results from randomised, double-blind, placebo-controlled phase 1 and 2 trials*”



III-TURKOVAC KLİNİK ARAŞTIRMALARI

RAPEL FAZ II



III-TURKOVAC KLİNİK ARAŞTIRMASI- RAPEL FAZ II

III.I Çalışma Başlığı:

“SARS-CoV-2'ye Karşı Rapel Aşılamanın Güvenliği, Etkinliği ve İmmünojenitesini Belirlemek için Çift Kör, Randomize, Kontrollü, Çok Merkezli Faz 2 Klinik Çalışma (Hibrid COV-Rapel TR)”

III.II. Çalışma Kodu:

Protokol kodu: Hibrid COV-BOOST TR(TSB-VAC-COV-TUR-RF2.02)

III.III. Çalışmanın Yapıldığı Merkezler ve Araştırmacı Bilgileri:

III.III. I. Koordinatör Merkez:

Ankara Bilkent Şehir Hastanesi

III.III.II. Koordinatör Araştırmacı:

Doç. Dr. Ahmet Omma

III.III.III. Çalışmanın Yapıldığı Diğer Merkezler ve Sorumlu Araştırmacıları:

<i>KLİNİK ARAŞTIRMA MERKEZLERİ</i>	<i>ARAŞTIRMACILAR</i>
<ul style="list-style-type: none">Ankara Bilkent Şehir Hastanesi	<ul style="list-style-type: none">Doç. Dr. Ahmet Omma
<ul style="list-style-type: none">İstanbul Kartal Dr. Lütfi Kırdar Şehir Hastanesi	<ul style="list-style-type: none">Prof. Dr. Ayşe Batırel
<ul style="list-style-type: none">İstanbul Ümraniye EAH	<ul style="list-style-type: none">Doç. Dr. Mehtap Aydın
<ul style="list-style-type: none">İstanbul Sancaktepe EAH	<ul style="list-style-type: none">Doç. Dr. Fatma Yılmaz Karadağ

Tablo 3.1 Hibrid-Cov merkezler ve sorumlu araştırmacıları

III.IV. Çalışmada Kullanılan Ürünler:

Çalışmadaki tüm araştırma ürünleri omuza kas içine uygulanmıştır.

CoronaVac (Üretici Firma: Sinovac Biotech); COVID-19 AŞISI (Vero Cell), inaktive edilmiş aktif bileşen olarak SARS-CoV-2 antijeni içerir ve kullanıma hazır şırınga veya flakonlara doldurulur, dozaj enjeksiyon başına 0,5 mL/600 SU'dur, aşının ekspiyantları 0,3-0,6 mg/mL alüminyum hidroksit, 9 mg/mL sodyum klorür ve 5.0 mmol/L fosfattır. Çözeltinin pH'ı 6,8-7,8'dir. Aşı, içinde tabakalı çökeltilerin oluşabileceği ve çalkalama sırasında topaklar bulunmayacak şekilde çalkalanarak dağılabildiği yanardöner bir süspansiyondur. Çözeltinin ozmolalitesi 250-400 Osmol/kg olup, insan vücudu aralığındadır.



Eru-Cov-Vac (Turkovac Geçici ismi) Etkin madde olarak inaktive edilmiş SARS-CoV-2 antijeni içeren COVID-19 aşısı, beyaz renkli süspansiyon içerisindedir. Adjuvan olarak Alum Gel (AlOH - INVIVOGEN) kullanılmıştır. %2'lik süspansiyonundan son konsantrasyonu %0,05 (0,5 mg/doz) olacak şekilde formülize v 8.0 / 30-07-2021 edilmiştir. Koruyucu ve stabilizer ihtiva etmemektedir. Sterilite testi Farmakopede belirtilen yöntemle gerçekleştirilmiş olup final ürün ve inproses kontroller steril bulunmuştur.

III.V. Çalışma Dizayını:

Çalışma için yapılan power analizi ile aşı kolları için en az 111 katılımcı olması planlandı. Toplam 222 katılımcıdan oluşan 2 kolun her biri Eru-CoV-Vac ve CoronaVac aşılardan tek bir doz almak üzere sırasıyla 1:1 oranında bloklar oluşturulup rastgele atanacaktır. Yaş ve cins kotası uygulanacaktır. Randomizasyon işlemi Ürün Yönetim Sistemi (IWRS) ile yapılacaktır. Tıbbi acil müdahale gerektiren durumlarda, gönüllünün dahil olduğu çalışma kolunun bilinmesi tedavisi açısından gerekli ise, Araştırmacı tarafından çalışma körlüğü kırılabilir. Acil körleme kırılması ile ilgili detaylar IWRS sisteminde yer alacaktır. Körlüğü kırılan gönüllülerden çalışma süresince takip vizitlerine katılmaları istenecektir şeklinde çalışma tasarlanmıştır.

III.V.I. Çalışmanın Amacı:

Birincil amaçlar:

Homolog 2 dozluk bir primer rejimin 2. dozundan sonra en az 90 en fazla 270 gün geçmesini takiben SARS-CoV2'ye karşı rapel aşı dozlarının güvenliğini belirlemek.

İkincil amaçlar:

Homolog 2 dozluk bir primer rejimin 2. dozundan sonra en az 90 en fazla 270 gün geçmesini takiben SARS-CoV2'ye karşı rapel aşı dozlarının immünojenitesini belirlemek.

III.V.II. Çalışmanın Süresi:

Araştırma süresi: Toplam Gönüllü temini ile birlikte yaklaşık olarak 16 aydır.

Etik Komite Onay Tarihi: 22.06.2021

TİTCK Onay Tarihi: 11.07.2021

İlk Gönüllü Alım Tarihi (Araştırmanın başlangıcı); 12.07.2021

Son Gönüllü Alım Tarihi; 10.09.2021

Sonlanım noktası: 222 gönüllüyle çalışma gönüllü alımına kapanmıştır. Gönüllü takipleri ve çalışma devam etmektedir.

III.VI. Çalışma Metodolojisi:

Klinik Araştırmanın Sonuçların Değerlendirmesi Planı / Metodolojisi

Mevcut çalışma çift kör olarak tasarlanmıştır. Çalışmada araştırma ürününün gönüllüye atanması ve hazırlanmasında çalışma eczacısı görev almıştır. Çalışma eczacısı gönüllüye atanan koldaki ürünü araştırma ekibi tarafından belirlenen standart tipte bir şırıngaya çekerek gönüllü numarası,



gönüllü baş harfleri, IVRS kodu ve hazırlanma saati ve tarihini içeren etiketi yapıştırıştır. Bu sayede kör uygulama için hazır hale getirilmiş olan araştırma ürünü çalışma hemşiresi tarafından gönüllülere uygulanmıştır. Çalışma kapsamında çalışma eczacısı haricinde, çalışma hemşiresi dahil çalışma ekibi ile gönüllüler kör kalmaktadır. Çalışmaya 2 aşı kolu için 111 gönüllü alınması planlanmış ve çalışmada gönüllü dahil etme süreci tamamlanmıştır. CoronaVac aşısının 2. dozundan sonra en az 90 en fazla 270 gün geçmiş olan gönüllülere 1:1 oranında randomize edilerek rapel doz aşısı (CoronaVac veya TURKOVAC) uygulanmıştır. Gönüllü seçim kriterlerine uyan katılımcılara herhangi bir işlem yapılmadan önce çalışma detaylı anlatılmış ve Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu (BGOF)'nu imzalamaları istenmiştir. BGOF'u imzalayan tüm gönüllülere aşı öncesi SARS-CoV-2 PCR testi yapılarak pozitif çıkanlar çalışma dışı bırakılmışlardır. Ayrıca kadın gönüllüler için ilk aşı dozu uygulaması öncesinde gebelik testi yapılarak pozitif çıkanlar çalışma dışı bırakılmışlardır. Rapel aşı dozu öncesinde ve doz yapıldıktan sonra 1. saat, 28. gün, 84. gün ve 168. günde gönüllülerin vital bulguları (ağız sıcaklığı, oksijen satürasyonu, kan basıncı ve solunum sayısı) ölçülmektedir. Tüm gönüllüler aşı sonrası 30 dakika boyunca döküntü, dilde şişme, aşı yapılan kolda ağrı, şişlik, kızarıklık, uyuşma da dahil olmak üzere advers olaylar açısından izlenmişlerdir. Advers olaylar uygulama sonrası 7 gün süresince günlük olarak, sonrasında 168. güne kadar haftalık olarak telefon vizitleri ile rutin takip edilmektedir. Advers olayların şiddeti, başlama zamanı, süresi ve varsa tarihiyle birlikte hastaneye başvuru ya da yatış gereksinimi Veri Toplama Formu'na kaydedilmektedir. Tüm gönüllülerden 0 ve 28. günlerde immünojenisite için kan alınmıştır. Değerlendirilen birincil sonuçlar, her 2 aşı grubu için kendi içinde değerlendirilmektedir. 28. günde her 2 grupta SARS-CoV2 nötralizan antikor ve anti-spike protein IgG'deki değişim miktarı değerlendirilecektir. Çalışmanın 84. gününde her grupta uygulanan aşı grubu açıklanmaktadır. Her 2 aşı kolu için SARS-CoV2 nötralizan antikor ve anti-spike protein IgG ölçümü 84. Günde tekrarlanmaktadır. Gönüllüler yan etki değerlendirilmesi için 168. güne kadar izlenecektir.

Bakılacak Parametreler:

- Beklenen ve istenmeyen advers olaylar
- Gebelik testi
- SARS-CoV2 PCR testi
- İmmünojenisite;

-SARS-CoV2-Nötralize Edici Antikor

-Anti spike protein IgG (Siemens Atellica-IM Total (COV2T) S1 antijenine karşı oluşan

Ig G antikor)

III.VI. I. Etkinlik:

Etkililik;

- Aşı kollarındaki gönüllülerde 0, 28 ve 84. günlerdeki
- SARS-CoV2 nötralizan antikor miktarı
- SARS-CoV2 anti-spike protein IgG miktarı



III.VI.II. Güvenlik:

Güvenlilik;

- Tüm gönüllülerde aşılama sonrası 7 gün içinde advers reaksiyon insidansı.
- Tüm gönüllülerde aşılama sonrası 168. güne kadar Ciddi Advers Olayların (CAO) insidansı.

İstatistiksel yöntemler;

İstatistiksel analiz için PASW 18.0 for Windows programı kullanılacaktır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi p değerinin 0,05 ten küçük olması durumu olarak kabul edilecektir. Tanımlayıcı istatistikler, kategorik değişkenler için sayı ve yüzdeler, sayısal değişkenler için ortalama, standart sapma, ortanca, minimum, maksimum, persentil 25, persentil 75 olarak sunulacaktır. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu görsel (histogram ve olasılık grafikleri) ve analitik yöntemler (Kolmogrov-Simirnov/Shapiro-Wilk testleri) kullanılarak incelenecektir. İnsidans analizlerinden hariç tutmalara ilişkin spesifik varsayımlar altında, istatistiksel analiz planında ayrıntılı olarak sağlanacaktır. Esas olarak güvenlilik parametrelerini tanımlama ve değerlendirmeyi ve daha önceden tanımlanmış istatistiksel hipotezlerle test etmeden daha çok rutin klinik uygulamada güvenliliğini belirlemeyi amaçlamaktadır. İstatistiksel analiz, prensip olarak ölçme amacıyla uygulanacaktır. Birincil değerlendirme kriterleri için, aşılama sonrası 7 gün içinde advers ilaç reaksiyon insidansı ve aşılama sonrası 168. güne kadar Ciddi Advers Olayların (CAO) insidansı aşı gruplarında ayrı ayrı sunulmak üzere tanımlayıcı istatistik olarak özetlenecektir. İkincil değerlendirme kriterleri için, aşı kollarındaki gönüllülerde 0, 28 ve 84. günlerdeki SARS-CoV2 nötralizan antikor miktarı ve SARS-CoV2 anti-spike protein IgG miktarı tanımlayıcı olarak sunulacaktır. Aşı kolları ve placebo grupları arasında başlangıça göre 28. gündeki SARS-CoV2 nötralizan antikor miktarı ve SARS-CoV2 anti-spike protein IgG miktarındaki değişimler normal dağılım koşulu sağlandığı durumda Tekrarlı Ölçümler ANOVA, normal dağılım koşulu sağlanmadığı durumda ise başlangıça göre 28. gün arasındaki SARS-CoV2 nötralizan antikor miktarı ve SARS-CoV2 anti-spike protein IgG miktarlarının yüzde değişimleri hesaplanarak gruplar arasında Kruskal Wallis testi kullanılarak incelenecektir. Post hoc analizleri için Bonferroni düzeltilmesi ile Mann Whitney U testi kullanılacaktır.

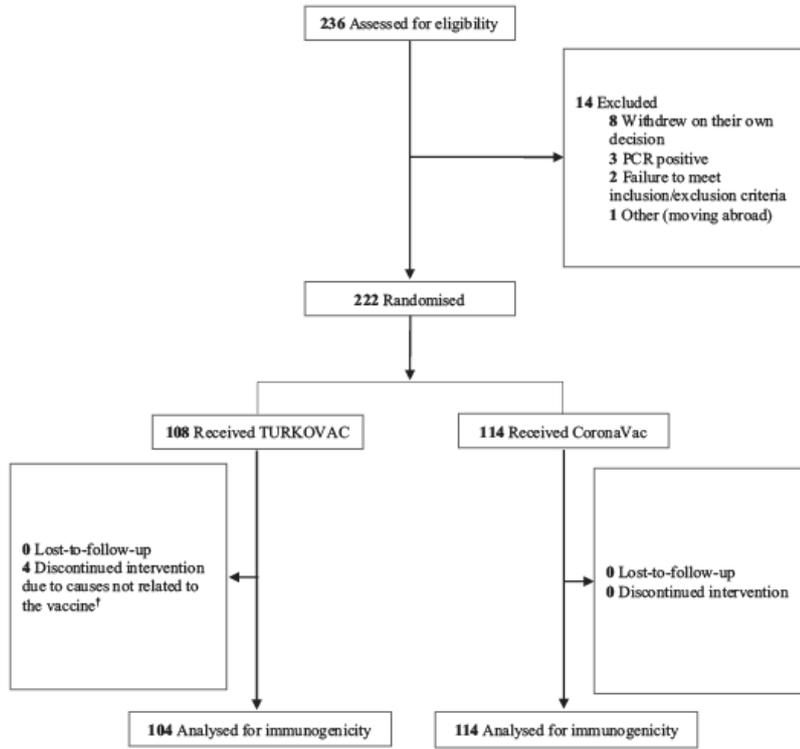
III.VII. Sonuçlar:

Çalışmaya dahil edilen 222 gönüllünün tümü aşılama sonrası 28. gün vizitlerini tamamlamıştır. Çalışmada TURKOVAC ve CoronaVac kollarında ilk 7 gün sonunda sırasıyla 37 ve 33, ilk 7-14 gün arasında sırasıyla 3 ve 5 ve ilk 14-28 gün arasında da sırasıyla 5 ve 7 gönüllüde advers olay görülmüştür. Lokal advers olay gözlenen gönüllü sayısı TURKOVAC ve CoronaVac kollarında ilk 7 gün sonunda sırasıyla 31 ve 28, ilk 7-14 gün arasında her iki kolda da 0 ve ilk 14-28 gün arasında da sırasıyla 0 ve 31'dir. Sistemik advers olay gözlenen gönüllü sayısı TURKOVAC ve CoronaVac kollarında ilk 7 gün sonunda sırasıyla 25 ve 28, ilk 7-14 gün arasında 3 ve 8 ve ilk 14-28 gün arasında da 6 ve 8'dir. Çalışmada görülen tüm advers olaylar aşağıda Güvenlilik Sonuçları başlığı altında ilk 7, 7-14 ve 14-28 gün içerisinde bildirilen Advers Olayların Lokal/Sistemik Gruplarına Göre Şiddet Dağılımı tablolarında detaylı olarak verilmiştir. Hibrid COV-Rapel TR Çalışmasının immünojenite analizleri için veri toplama ve analiz işlemleri devam etmekle birlikte, yapılan ara analizler sonucunda 218 gönüllüde Wuhan varyantına göre \square 1/6 oranında seyreltme ile nötralizan antikor varlığı TURKOVAC ve CoronaVac gruplarında rapel doz aşısı öncesi sırasıyla %46,2 ve



%52,6 iken, aşı sonrası 28. günde bu oran sırasıyla %100,0 ve %98,2'ye yükselmiştir. Yine aynı gönüllülerde, Wuhan varyantına göre 1/12 oranında seyreltme ile de nötralizan antikor varlığı ise TURKOVAC ve CoronaVac gruplarında başlangıçta sırasıyla %24,0 ve %36,0 iken, aşı sonrası 28. günde sırasıyla %83,7 ve %86,8'e yükselmiştir. Çalışmada 217 gönüllüde delta varyantına göre 1/6 oranında seyreltme ile nötralizan antikor varlığı TURKOVAC ve CoronaVac gruplarında rapel doz aşısı öncesi sırasıyla %8,7 ve %14,0 iken, aşı sonrası 28. günde bu oran sırasıyla %80,6 ve %71,9'a yükselmiştir. Aynı 217 gönüllünün, delta varyantına göre 1/12 oranında seyreltme ile de nötralizan antikor varlığı ise TURKOVAC ve CoronaVac gruplarında başlangıçta sırasıyla %2,9 ve %10,5 iken, aşı sonrası 28. günde sırasıyla %52,4 ve %27,2'ye yükselmiştir. Çalışmanın 217 gönüllüye ait sonuçlarıyla yapılan ara analizine göre IgG-Spike pozitiflik oranı TURKOVAC ve CoronaVac gruplarında rapel doz aşısı öncesi sırasıyla %57,3 ve %57,9 iken, aşı sonrası 28. günde bu oran sırasıyla %98,1 ve %97,4'e yükselmiştir. İmmünojenite analizlerine ait tablo ve grafikler aşağıda etkililik sonuçları başlığı altında sunulmaktadır.

Gönüllü Dispozisyonu:



Şekil 3.1 Hibrid-Cov gönüllü dispozisyonu

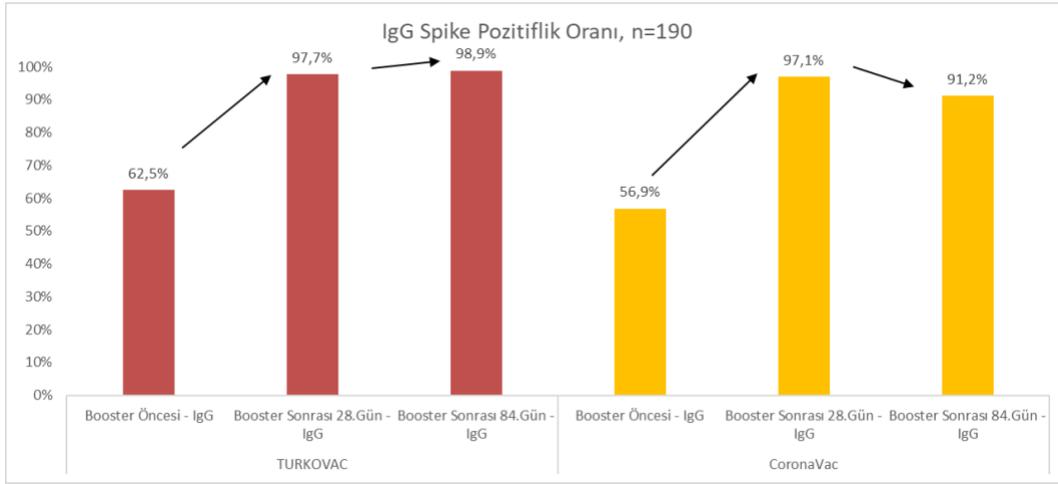
Toplamda 32 gönüllü çalışmadan erken ayrılmış 190 gönüllü çalışmayı tamamlamıştır.



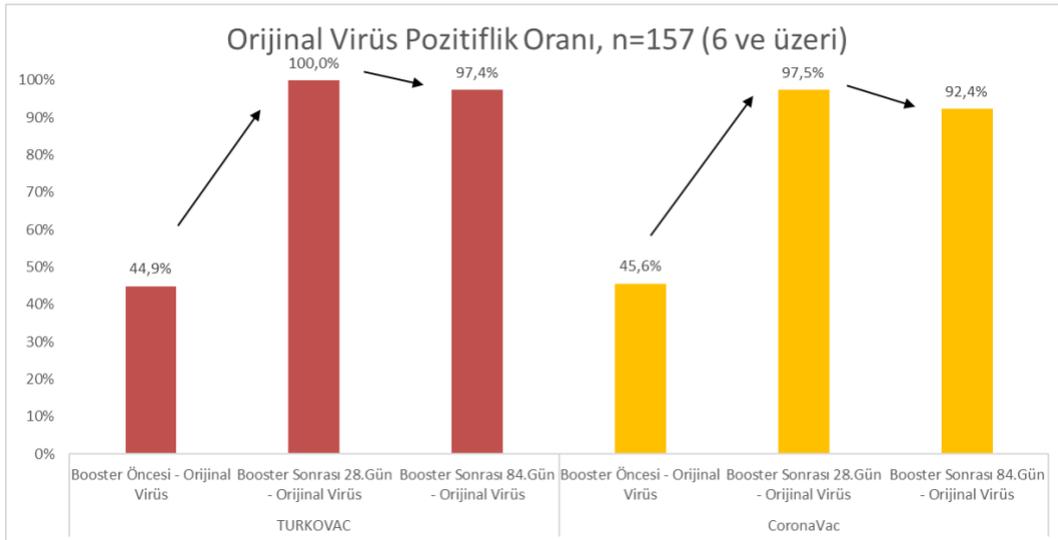
III.VII. I. Etkinlik Sonuçları:

Immunojenisite:

Şekil 3.2 Tüm Gönüllülerde Görülen Igg Spike Pozitiflik Oranı

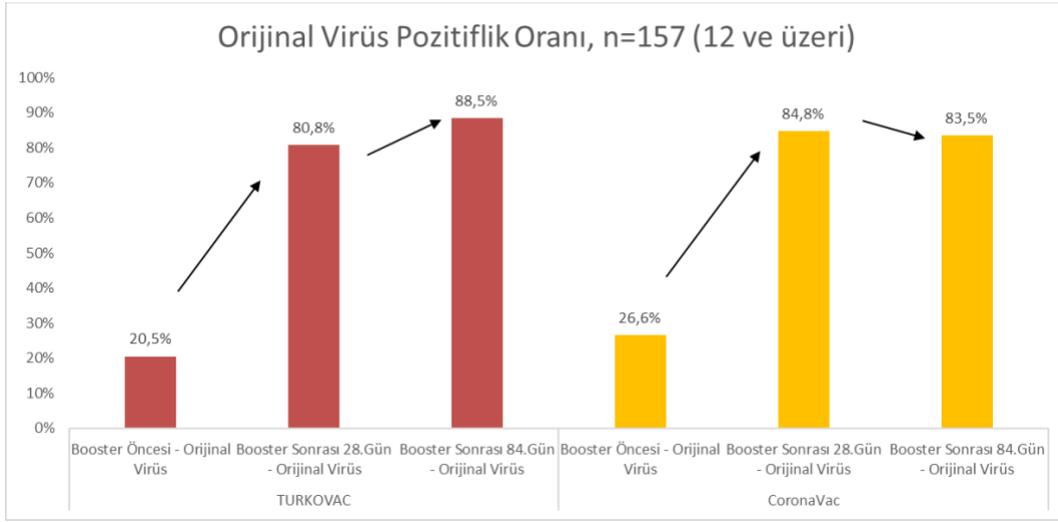


Şekil 3.3 Tüm Gönüllülerde Görülen Orijinal Virüs Pozitiflik Oranı (6 Ve Üzeri)

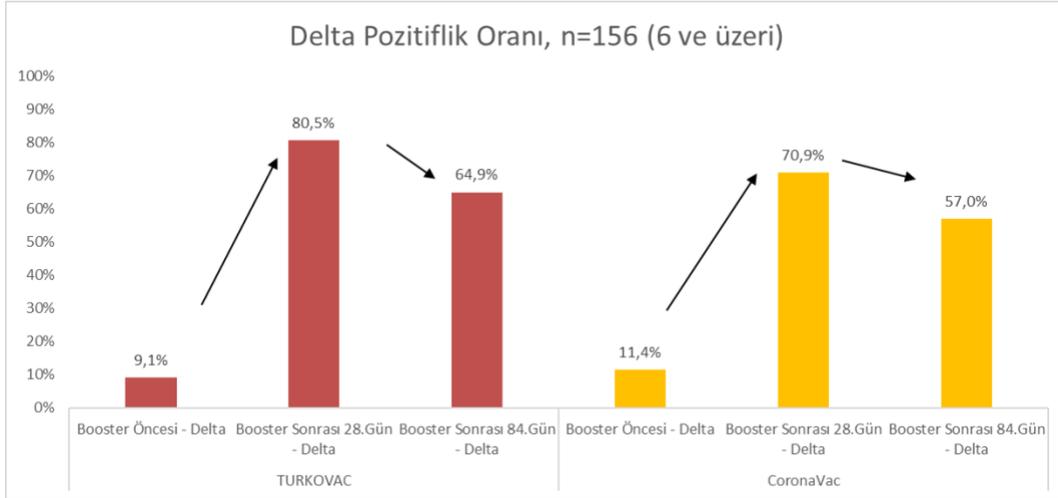




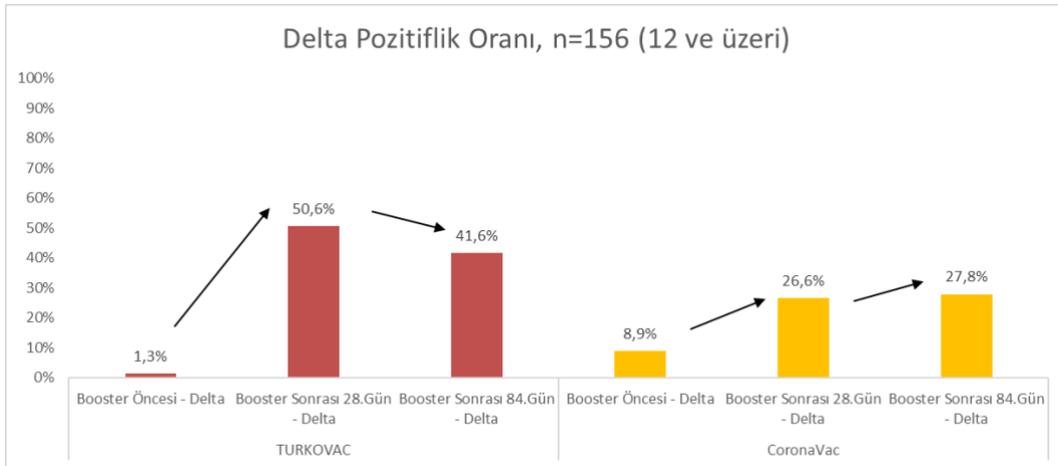
Şekil 3.4 Tüm Gönüllülerde Görülen Orijinal Virüs Pozitiflik Oranı (12 Ve Üzeri)



Şekil 3.5 Tüm Gönüllülerde Görülen Delta Pozitiflik Oranı (6 ve Üzeri)

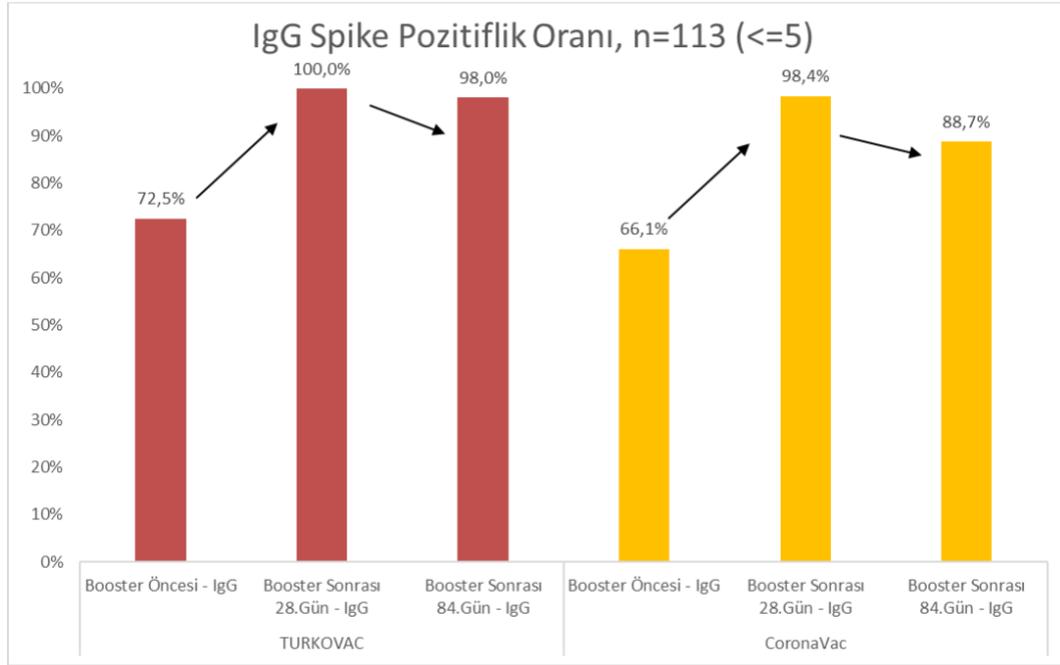


Şekil 3.6 Tüm Gönüllülerde Görülen Delta Pozitiflik Oranı (12 Ve Üzeri)

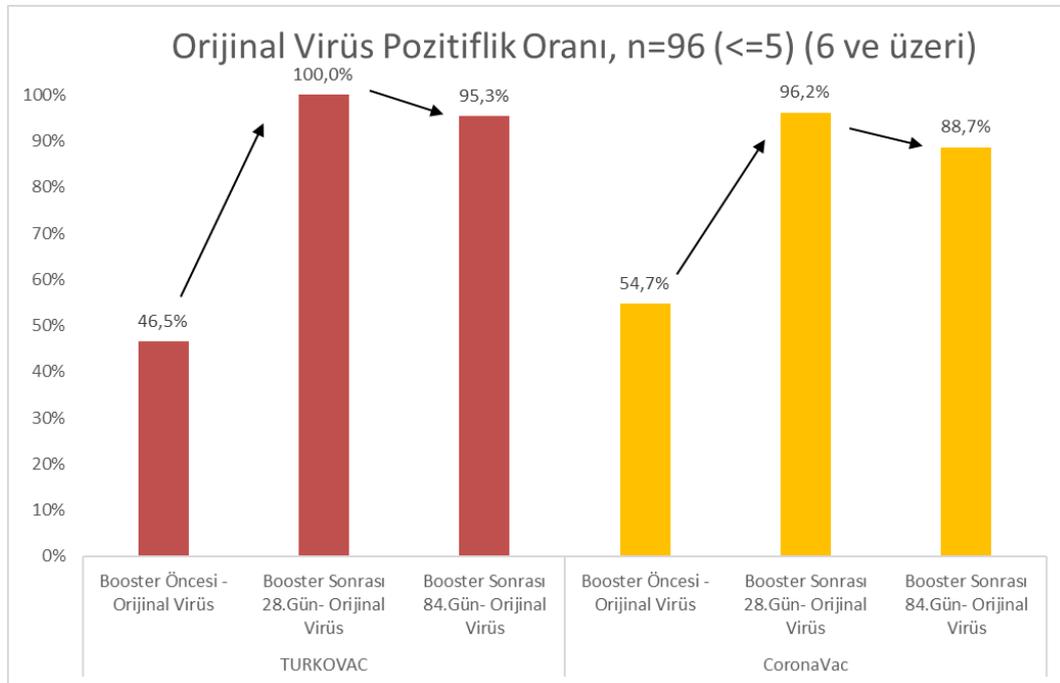




Şekil 3.7 Aşılama Sonrası İlk 5 Ayda Tüm Gönüllülerde Görülen IgG Spike Pozitiflik Oranı

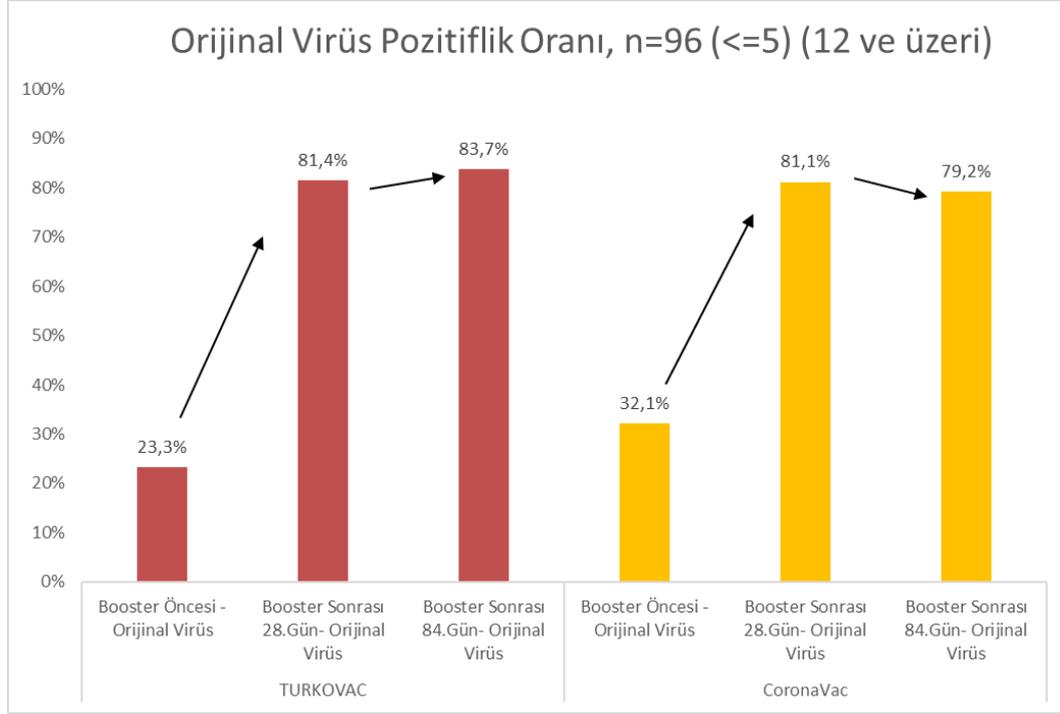


Şekil 3.8 Aşılama Sonrası İlk 5 Ayda Tüm Gönüllülerde Görülen Orijinal Virüs Pozitiflik Oranı (6 ve üzeri)

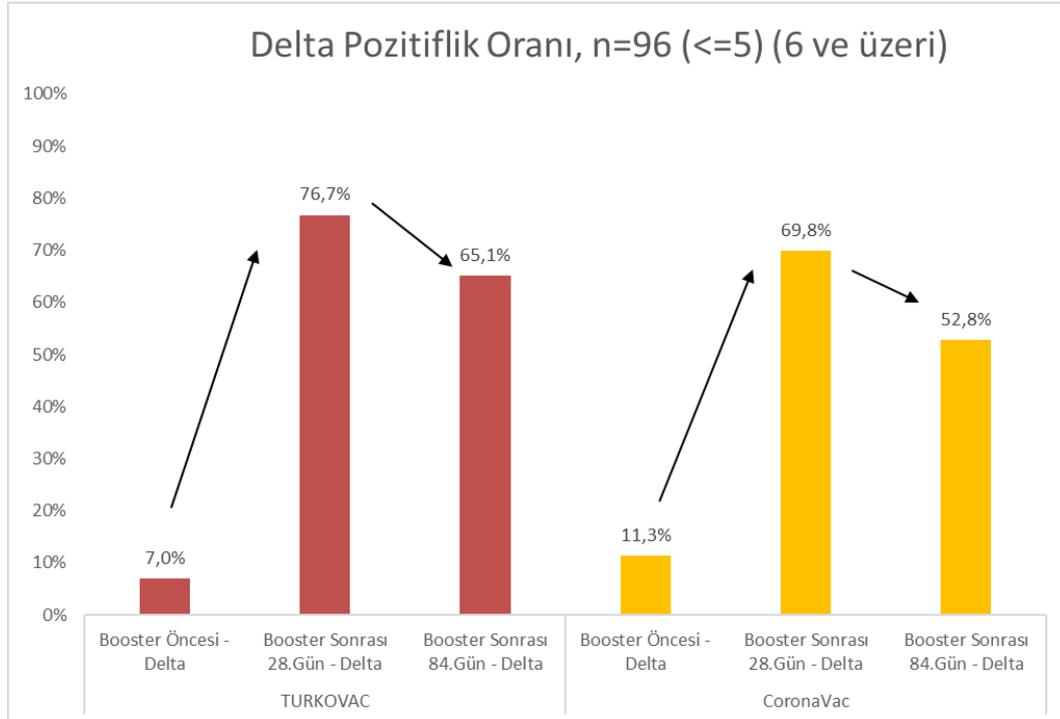




Şekil 3.9 Aşılama Sonrası İlk 5 Ayda Tüm Gönüllülerde Görülen Orijinal Virüs Pozitiflik Oranı (12 ve üzeri)

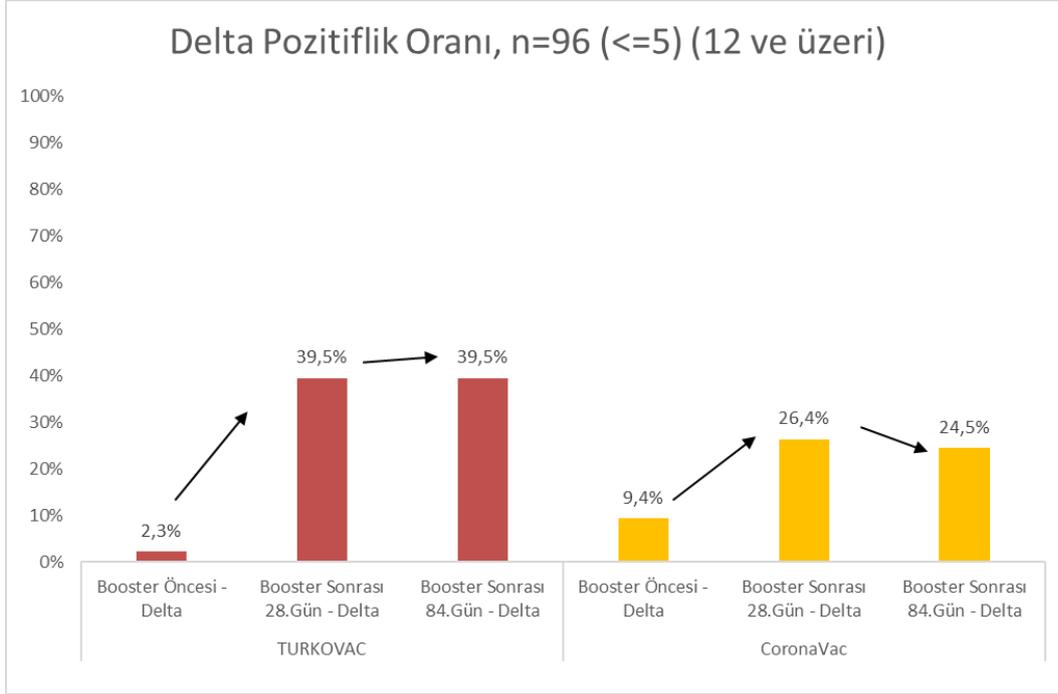


Şekil 3.10 Aşılama Sonrası İlk 5 Ayda Tüm Gönüllülerde Görülen Delta Pozitiflik Oranı (6 ve üzeri)

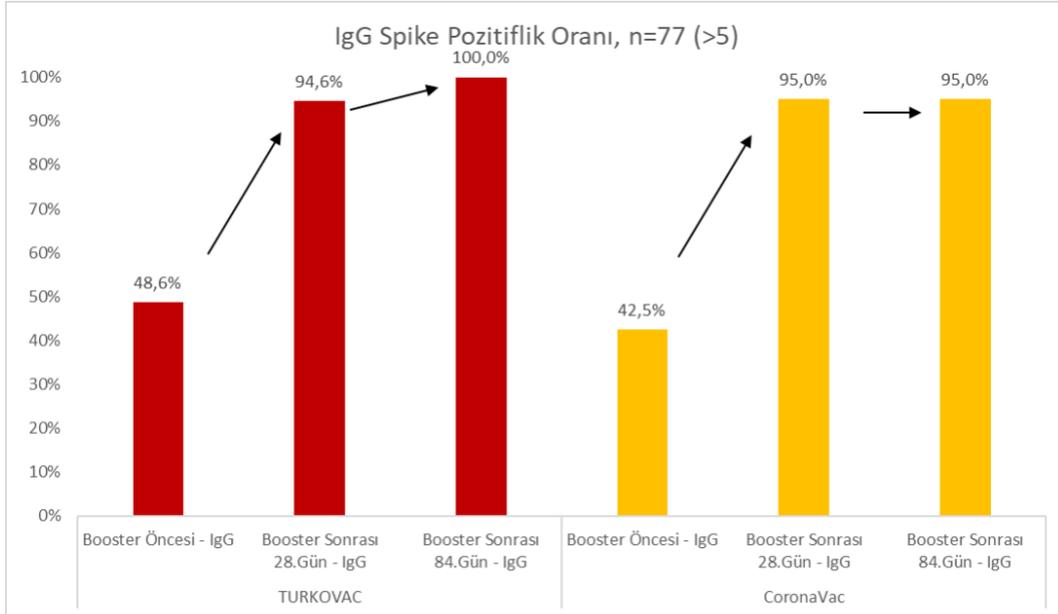




Şekil 3.11 Aşılamadan Sonrası İlk 5 Ayda Tüm Gönüllülerde Görülen Delta Pozitiflik Oranı (12 ve üzeri)

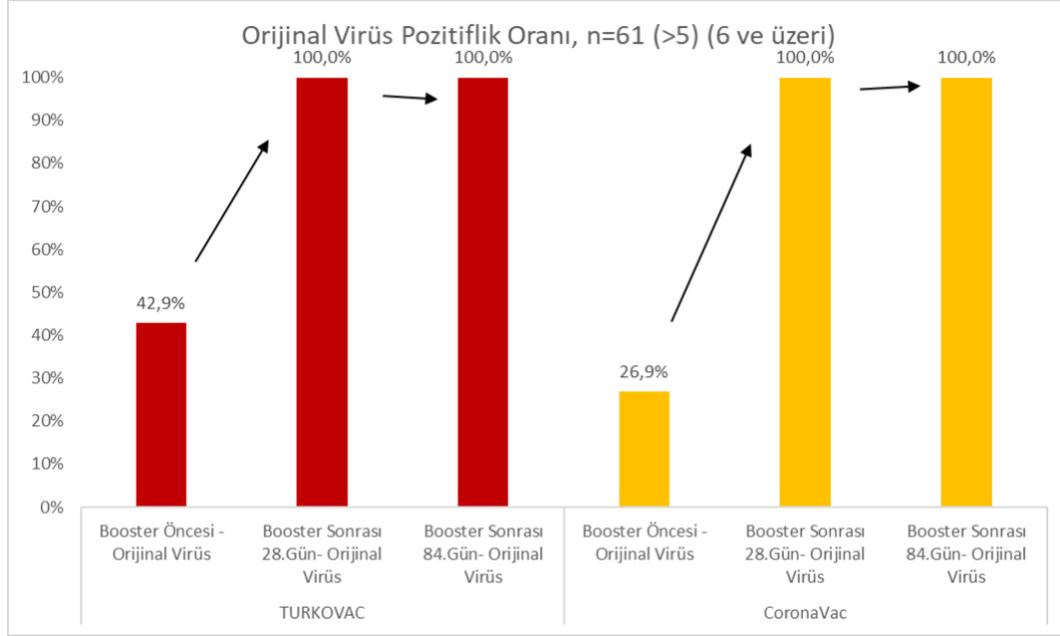


Şekil 3.12 Aşılamadan 5 Ay Sonra Tüm Gönüllülerde Görülen IgG Spike Pozitiflik Oranı

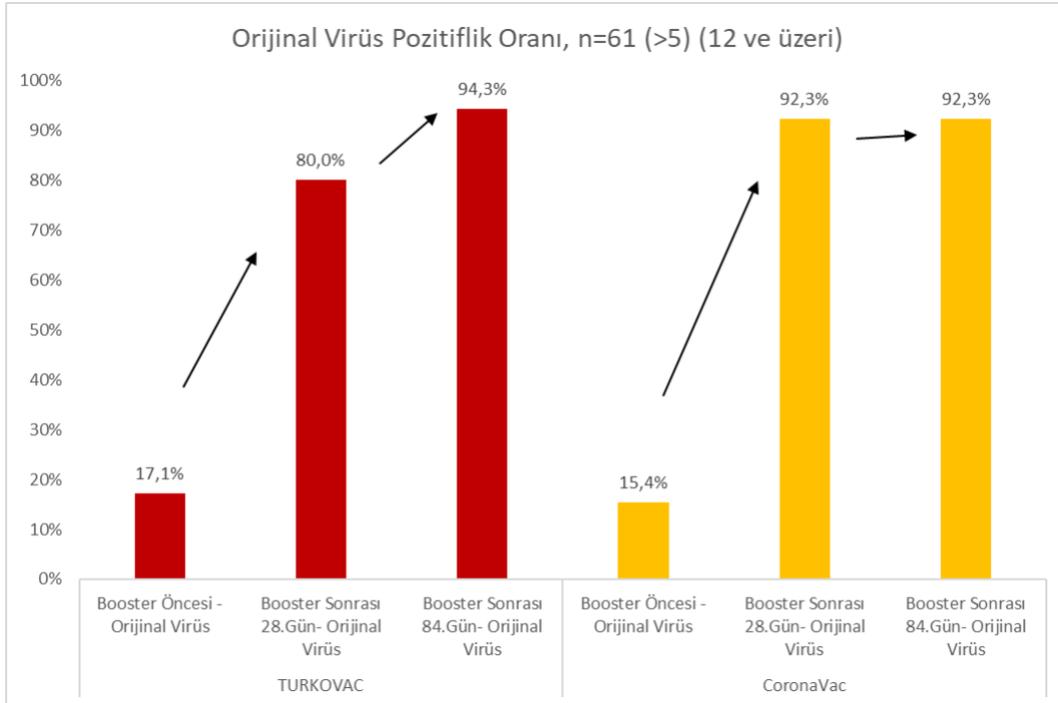




Şekil 3.13 Aşılamadan 5 Ay Sonra Tüm Gönüllülerde Görülen Orijinal Virüs Pozitiflik Oranı (6 ve üzeri)

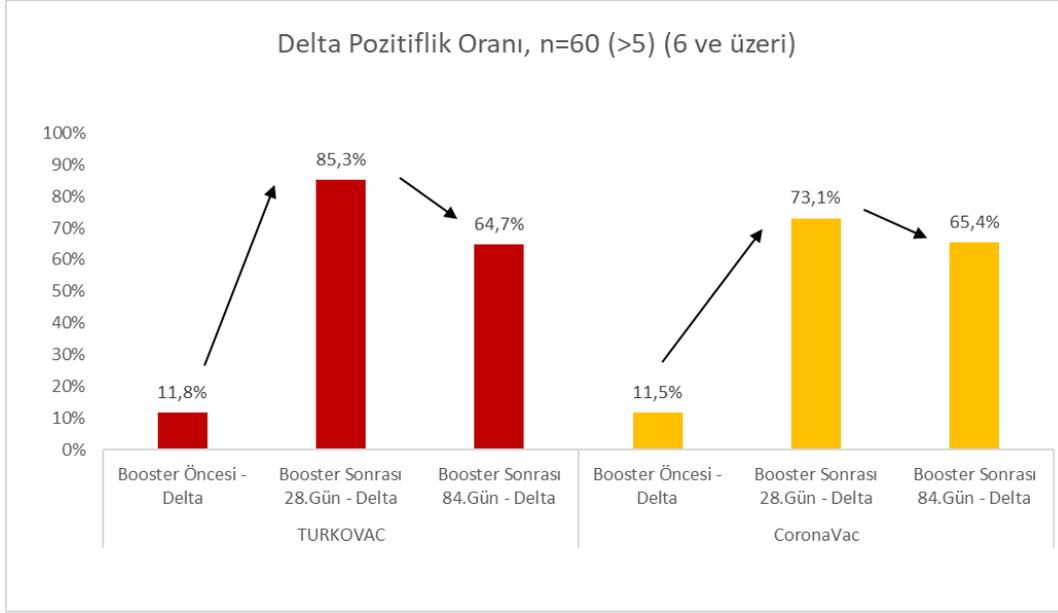


Şekil 3.14 Aşılamadan 5 Ay Sonra Tüm Gönüllülerde Görülen Orijinal Virüs Pozitiflik Oranı (12 ve üzeri)

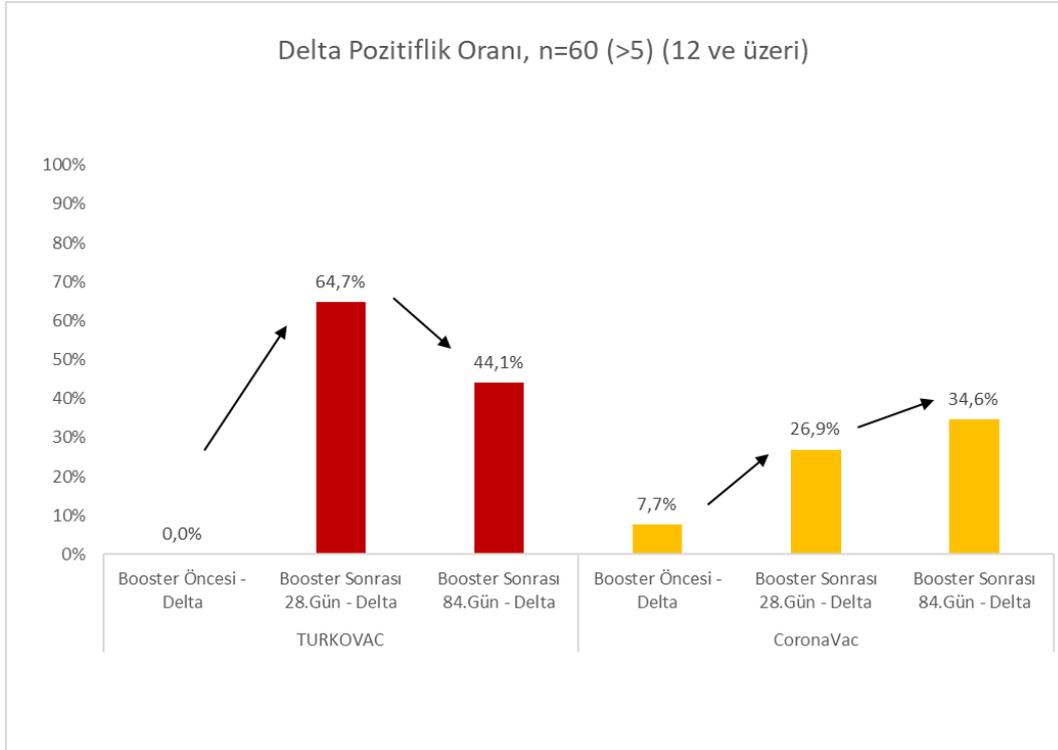




Şekil 3.15 Aşılamadan 5 Ay Sonra Tüm Gönüllülerde Görülen Delta Pozitiflik Oranı (6 ve üzeri)

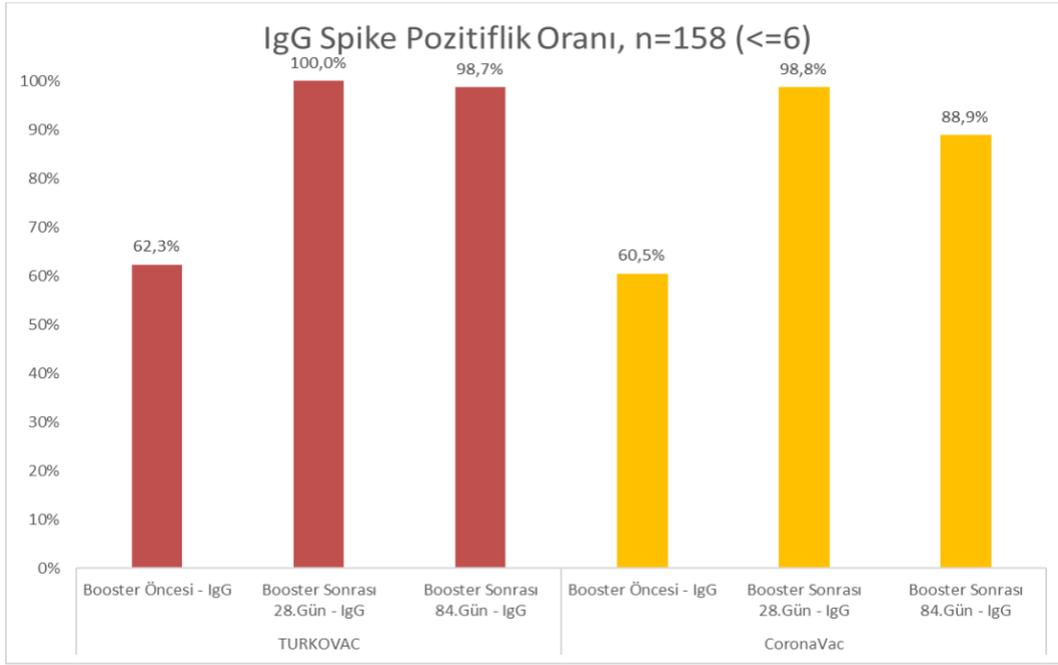


Şekil 3.16 Aşılamadan 5 Ay Sonra Tüm Gönüllülerde Görülen Delta Pozitiflik Oranı (12 ve üzeri)

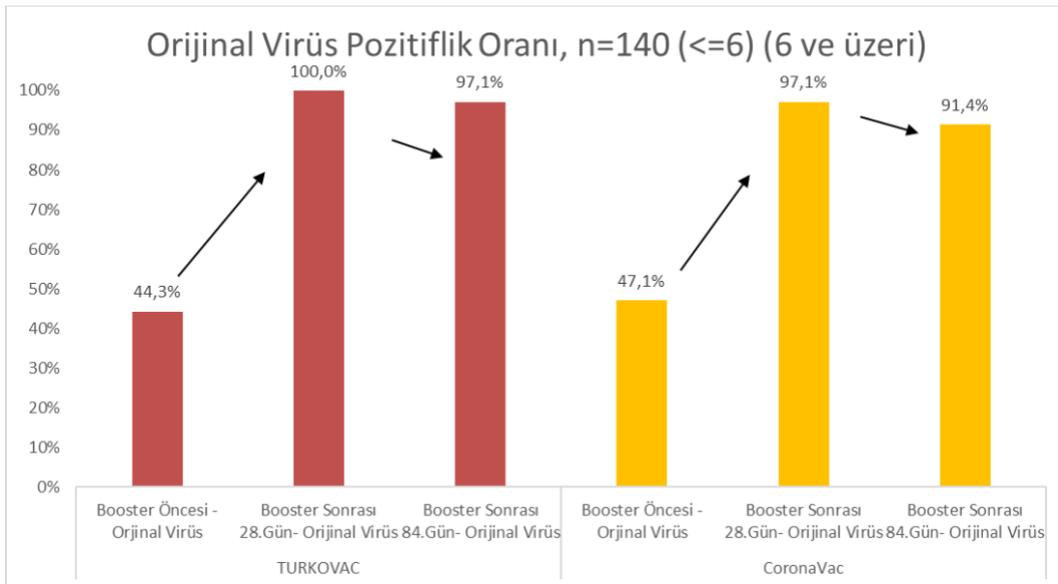




Şekil 3.17 Aşılama Sonrası İlk 6 Ayda Tüm Gönüllülerde Görülen IgG Spike Pozitiflik Oranı

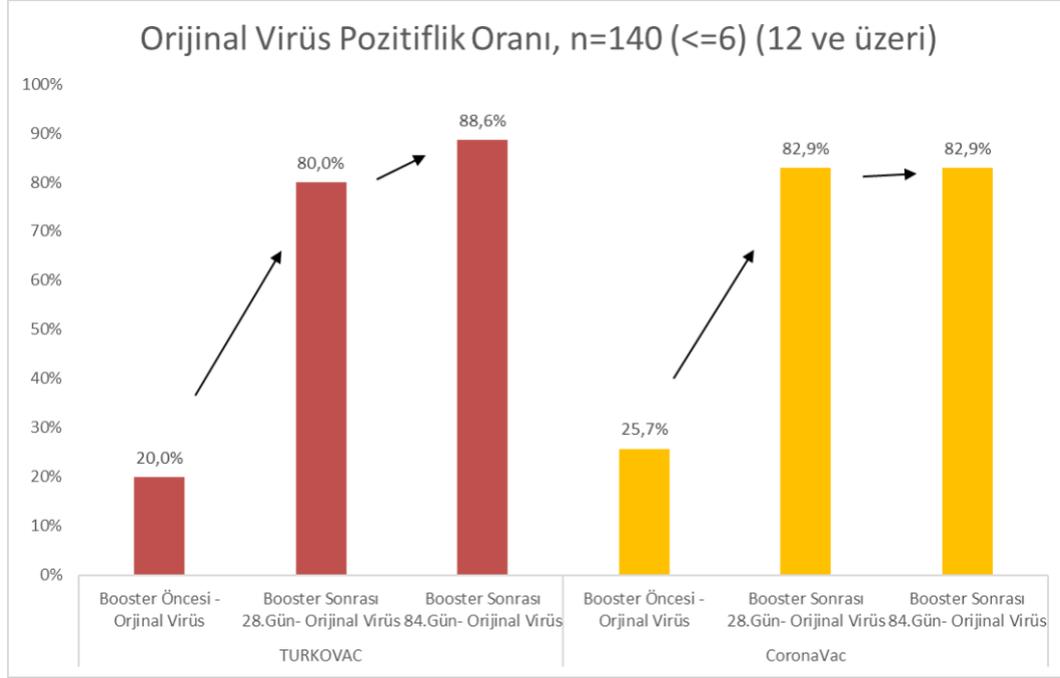


Şekil 3.18 Aşılama Sonrası İlk 6 Ayda Tüm Gönüllülerde Görülen Orijinal Virüs Pozitiflik Oranı (6 ve üzeri)

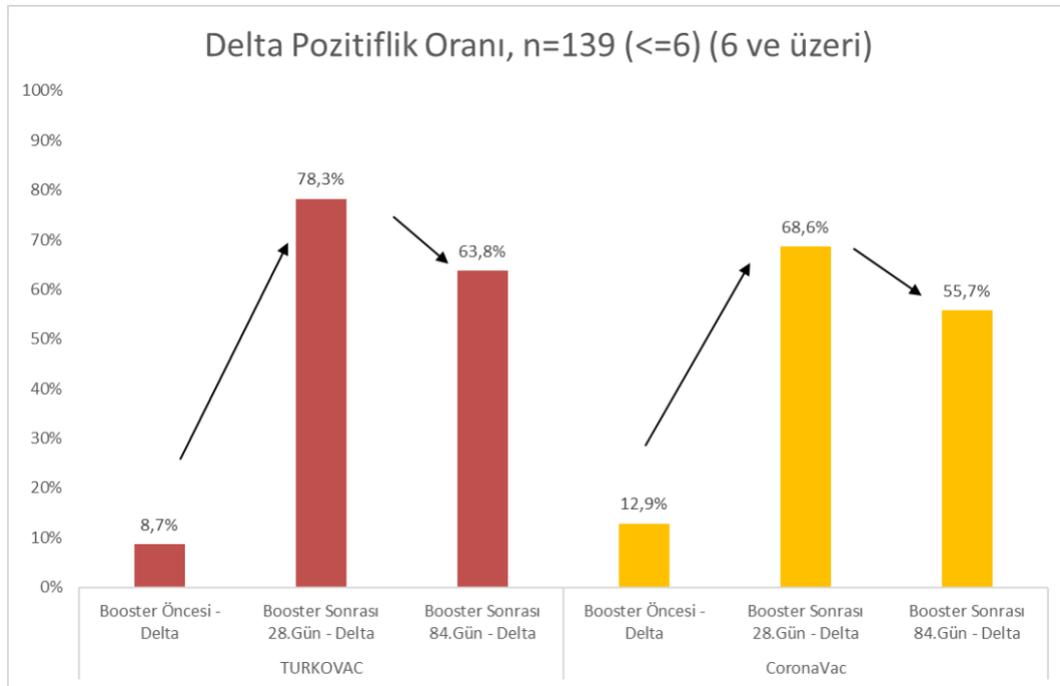




Şekil 3.19 Aşılama Sonrası İlk 6 Ayda Tüm Gönüllülerde Görülen Orijinal Virüs Pozitiflik Oranı (12 ve üzeri)

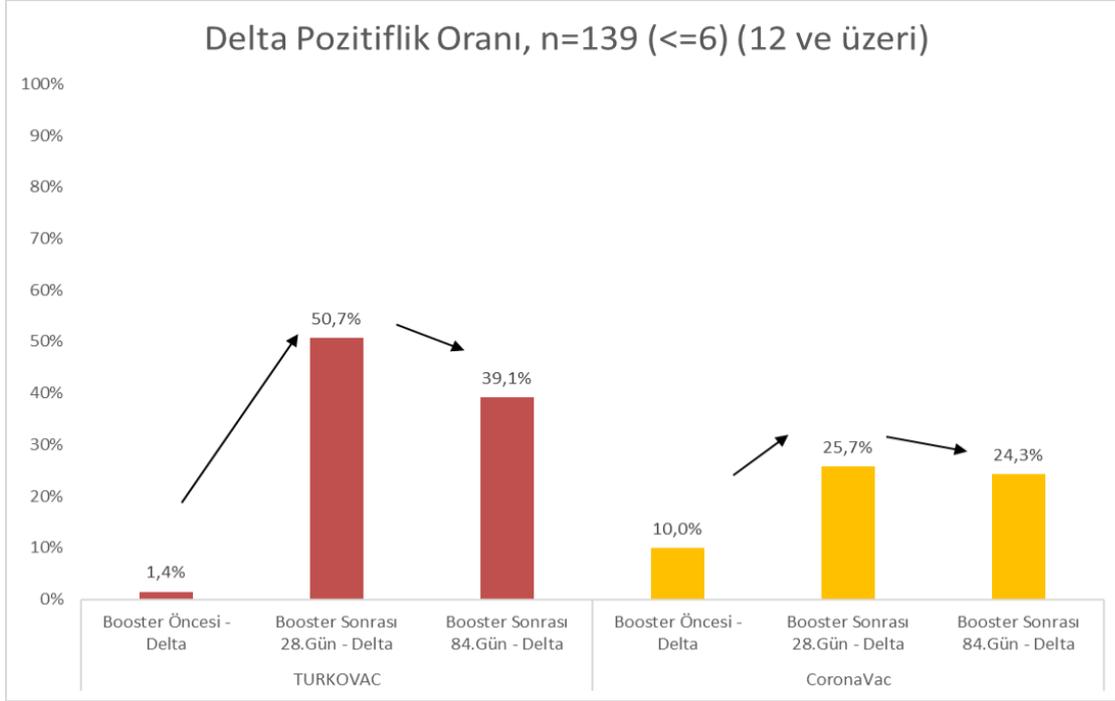


Şekil 3.20 Aşılama Sonrası İlk 6 Ayda Tüm Gönüllülerde Görülen Delta Pozitiflik Oranı (6 ve üzeri)

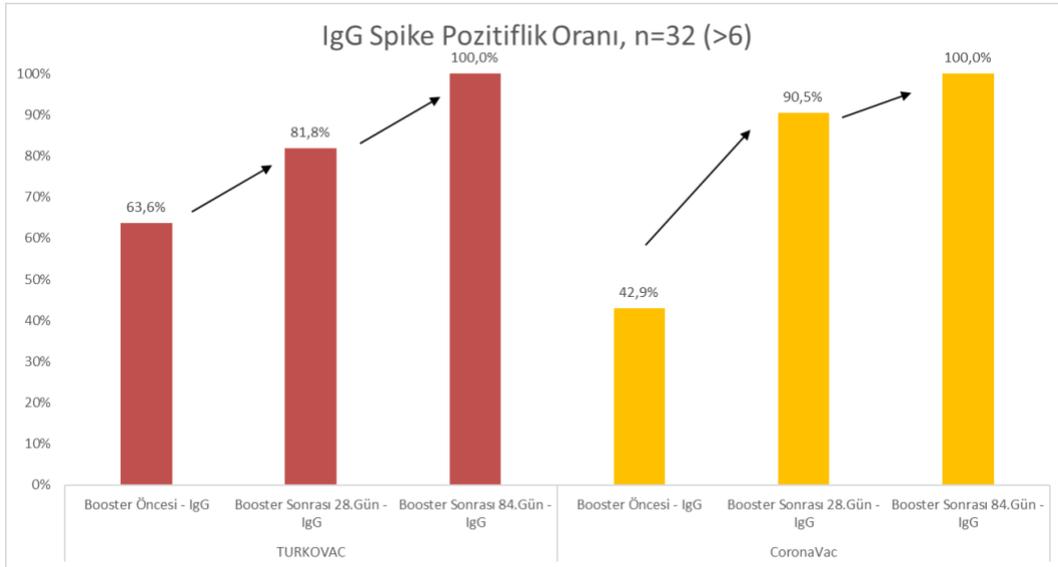




Şekil 3.21 Aşılamadan Sonrası İlk 6 Ayda Tüm Gönüllülerde Görülen Delta Pozitiflik Oranı (12 ve üzeri)

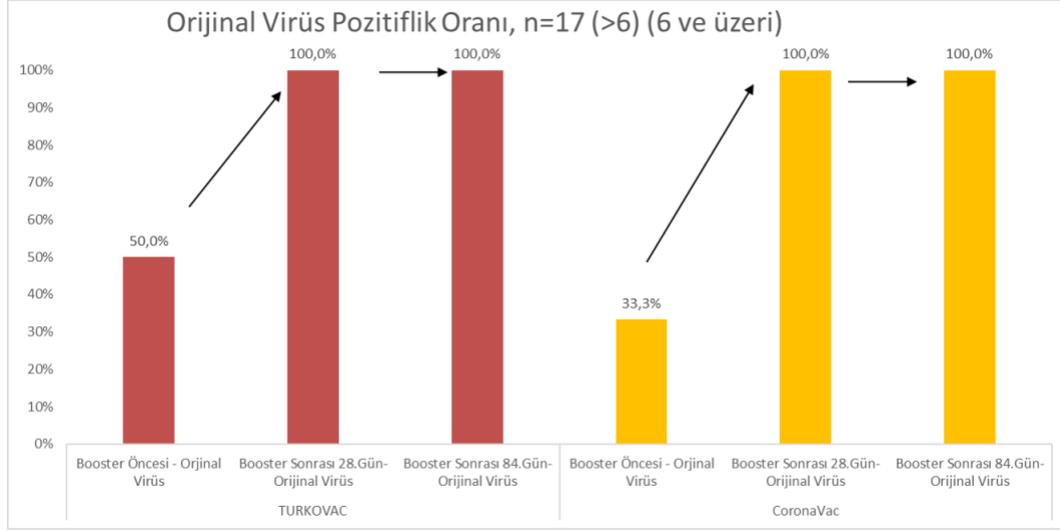


Şekil 3.22 Aşılamadan 6 Ay Sonra Tüm Gönüllülerde Görülen IgG Spike Pozitiflik Oranı

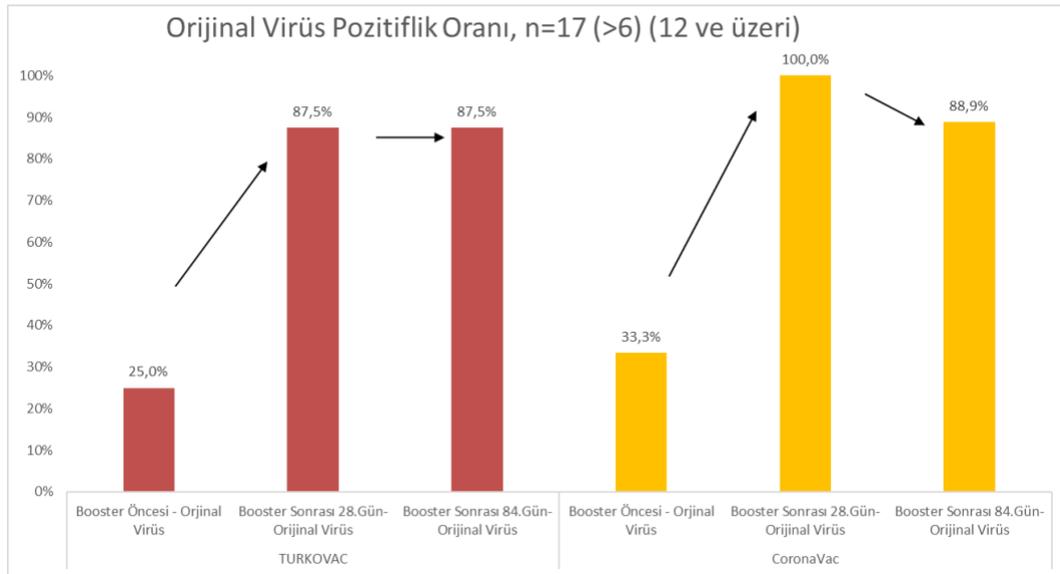




Şekil 3.23 Aşılamadan 6 Ay Sonra Tüm Gönüllülerde Görülen Orijinal Virüs Pozitiflik Oranı (6 ve üzeri)

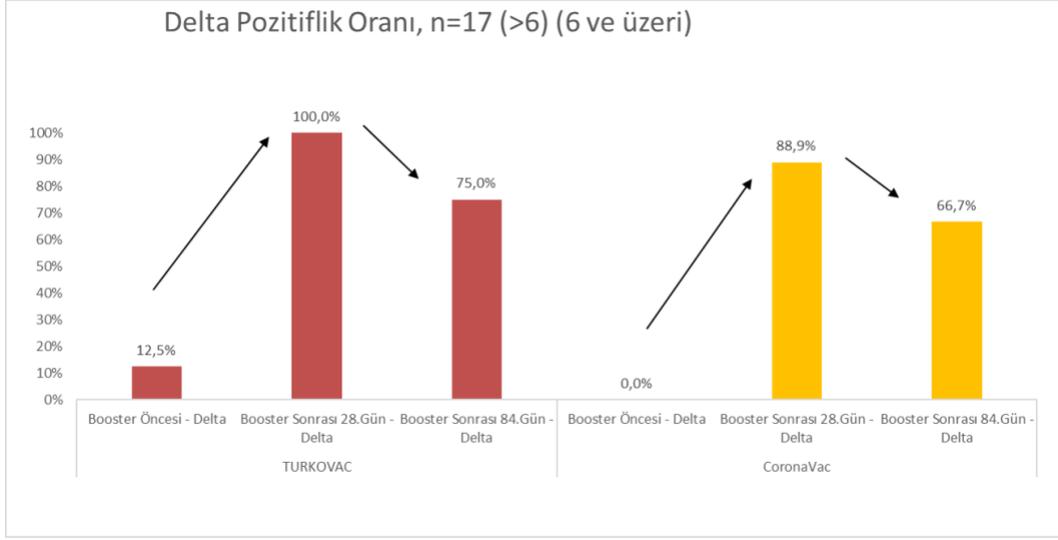


Şekil 3.24 Aşılamadan 6 Ay Sonra Tüm Gönüllülerde Görülen Orijinal Virüs Pozitiflik Oranı (12 ve üzeri)

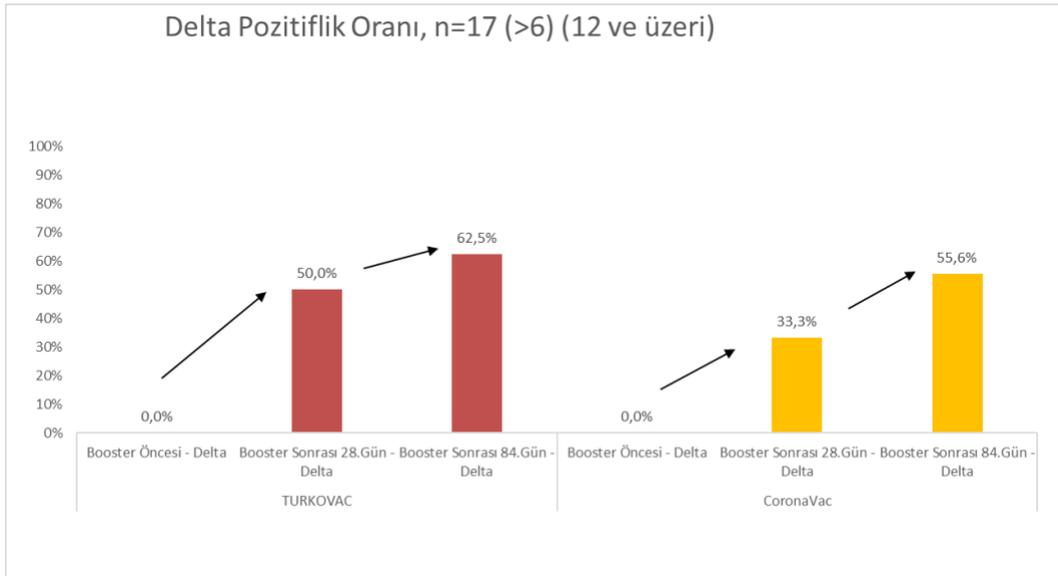




Şekil 3.25 Aşılamadan 6 Ay Sonra Tüm Gönüllülerde Görülen Delta Pozitiflik Oranı (6 ve üzeri)



Şekil 3.26 Aşılamadan 6 Ay Sonra Tüm Gönüllülerde Görülen Delta Pozitiflik Oranı (12 ve üzeri)





III.VII.II. Güvenlik Sonuçları:

Tablo 3.2 Bildirilen Advers Olayların Gruplanması;

		Advers Olay Sayısı	Advers Olay Görülen Kişi Sayısı	Gönüllü Sayısı	AO Görülen Kişi Sayısı/ Gönüllü Sayısı
TURKOVAC	Aşılama sonrası ilk 7 gün	62	42	108	38,9%
	Aşılama sonrası ilk 7-14 gün	3	3	108	2,8%
	Aşılama sonrası ilk 14-28 gün	7	6	108	5,6%
CoronaVac	Aşılama sonrası ilk 7 gün	71	39	114	34,2%
	Aşılama sonrası ilk 7-14 gün	8	5	114	4,4%
	Aşılama sonrası ilk 14-28 gün	15	8	114	7,0%
Toplam	Aşılama sonrası ilk 7 gün	133	81	222	36,5%
	Aşılama sonrası ilk 7-14 gün	11	8	222	3,6%
	Aşılama sonrası ilk 14-28 gün	22	14	222	6,3%

Tablo 3.3 İlk 7 Gün İçerisinde Bildirilen Advers Olayların Lokal/Sistemik Gruplarına Göre Dağılımı;

		Aşı Kolu		Toplam
		CoronaVac	TURKOVAC	
Lokal	Toplam	35	35	70
	Ağrı	25	26	51
	Kol Ağrısı	5	6	11
	Sertlik	2	3	5
	Kas Ağrısı	1	0	1
	Kaşınıtı	1	0	1
	Şişlik	1	0	1
Sistemik	Toplam	36	27	63



Yorgunluk	12	9	21
Baş Ağrısı	4	7	11
Kas Ağrısı	3	3	6
İshal	4	1	5
Boğaz Ağrısı	3	0	3
Ağrı	0	2	2
Gribal Enfeksiyon	1	1	2
Öksürtük	2	0	2
Ateş	1	0	1
Bacak Ağrısı	0	1	1
Boyun-Kas Ağrısı	1	0	1
Eklem Ağrısı (Diz-Dirsek)	1	0	1
Göğüs Ağrısı	0	1	1
Hiperventilasyon	1	0	1
Kulak Çınlaması	0	1	1
Nefes Darlığı	0	1	1
Nezle	1	0	1
Üst Solunum Yolu Enfeksiyonu	1	0	1
Yüksek Ateş	1	0	1

Tablo 3.4 İlk 7 Gün İçerisinde Bildirilen Advers Olayların Lokal/Sistemik Gruplarına Göre Şiddet Dağılımı

		Aşı Kolu		
		CoronaVac	TURKOVAC	Toplam
Lokal	Toplam	35	35	70
	Grade 1 (Hafif)	32	31	63
	Grade 2 (Orta)	2	4	6
	Grade 3 (Şiddetli)	1	0	1
Sistemik	Toplam	36	27	63
	Grade 1 (Hafif)	24	20	44
	Grade 2 (Orta)	12	6	18
	Grade 3 (Şiddetli)	0	1	1



Tablo 3.5 İlk 7-14 Gün İçerisinde Bildirilen Advers Olayların Lokal/Sistemik Gruplarına Göre Dağılımı

		Aşı Kolu		
		CoronaVac	TURKOVAC	Toplam
Sistemik	Toplam	8	3	11
	Gribal Enfeksiyon	2	1	3
	Baş Ağrısı	1	1	2
	Ateş	1	0	1
	Boğaz Ağrısı	1	0	1
	Burun Akıntısı	1	0	1
	İshal	1	0	1
	Kaşıntı	0	1	1
	Yorgunluk	1	0	1

Tablo 3.6 İlk 7-14 Gün İçerisinde Bildirilen Advers Olayların Lokal/Sistemik Gruplarına Göre Şiddet Dağılımı

		Aşı Kolu		
		CoronaVac	TURKOVAC	Toplam
Sistemik	Toplam	8	3	11
	Grade 1 (Hafif)	8	2	10
	Grade 2 (Orta)	0	1	1



Tablo 3.7 İlk 14-28 Gün İçerisinde Bildirilen Advers Olayların Lokal/Sistemik Gruplarına Göre Dağılımı

		Aşı Kolu		
		CoronaVac	TURKOVAC	Toplam
Lokal	Toplam	1	0	1
	Sertlik	1	0	1
Sistemik	Toplam	14	7	21
	COVID 19 Pozitif	0	3	3
	Gribal Enfeksiyon	3	0	3
	Yorgunluk	3	0	3
	İshal	1	1	2
	Kas Ağrısı	1	1	2
	Baş Ağrısı	0	1	1
	Bel Ağrısı	0	1	1
	Boğaz Ağrısı	1	0	1
	Burun Tıkanıklığı	1	0	1
	Göğüs Ağrısı	1	0	1
	Göğüste Ağrı	1	0	1
	Kızarıklık (Karın Bölgesinde)	1	0	1
Soğuk Algınlığı	1	0	1	



Tablo 3.8 İlk 14-28 Gün İçerisinde Bildirilen Advers Olayların Lokal/Sistemik Gruplarına Göre Şiddet Dağılımı

		Aşı Kolu		
		CoronaVac	TURKOVAC	Toplam
Lokal	Toplam	1	0	1
	Grade 1 (Hafif)	1	0	1
Sistemik	Toplam	14	4	18
	Grade 1 (Hafif)	8	4	12
	Grade 2 (Orta)	6	0	6
COVID-19	SARS-CoV-2'nin Klinik İlerleme Ölçeği		3	
	Semptomatik - Bağımsız		3	3

III.VII.III Genel Sonuç:

CoronaVac aşısının 2. dozundan sonra en az 90 gün ve en fazla 270 gün geçmiş olanlara verilen inaktif COVID-19 aşısı rapel dozlarının güvenliğini ve immünojenitesini belirlemeyi amaçlayan Hibrid COV-Rapel TR çalışmasında, çalışmaya dahil edilen 222 gönüllünün tümü çalışmayı tamamlamıştır. Çalışmada TURKOVAC ve CoronaVac kollarında ilk 7 gün sonunda sırasıyla 37 ve 33, ilk 7-14 gün arasında sırasıyla 3 ve 5 ve ilk 14-28 gün arasında da sırasıyla 5 ve 7 gönüllüde advers olay görülmüştür. Lokal advers olay gözlenen gönüllü sayısı TURKOVAC ve CoronaVac kollarında ilk 7 gün sonunda sırasıyla 31 ve 28, ilk 7-14 gün arasında her iki kolda da 0 ve ilk 14-28 gün arasında da sırasıyla 0 ve 31'dir. Sistemik advers olay gözlenen gönüllü sayısı TURKOVAC ve CoronaVac kollarında ilk 7 gün sonunda sırasıyla 25 ve 28, ilk 7-14 gün arasında 3 ve 8 ve ilk 14-28 gün arasında da 6 ve 8'dir. Çalışmada görülen tüm advers olaylar aşağıda Güvenlilik Sonuçları başlığı altında ilk 7, 7-14 ve 14-28 gün içerisinde bildirilen Advers Olayların Lokal/Sistemik Gruplarına Göre Şiddet Dağılımı tablolarında detaylı olarak verilmiştir.

İmmünojenisite analizleri için yapılan analizler sonucunda 218 gönüllüde Wuhan varyantına göre $\geq 1/6$ oranında seyreltme ile nötralizan antikor varlığı TURKOVAC ve CoronaVac gruplarında rapel doz aşısı öncesi sırasıyla %46,2 ve %52,6 iken, aşı sonrası 28. günde bu oran sırasıyla %100,0 ve %98,2'ye yükselmiştir. Yine aynı gönüllülerde, Wuhan varyantına göre $\geq 1/12$ oranında seyreltme ile de nötralizan antikor varlığı ise TURKOVAC ve CoronaVac gruplarında başlangıçta sırasıyla %24,0 ve %36,0 iken, aşı sonrası 28. günde sırasıyla %83,7 ve %86,8'e yükselmiştir.

Çalışmada 217 gönüllüde delta varyantına göre $\geq 1/6$ oranında seyreltme ile nötralizan antikor varlığı TURKOVAC ve CoronaVac gruplarında rapel doz aşısı öncesi sırasıyla %8,7 ve %14,0



iken, aşı sonrası 28. günde bu oran sırasıyla %80,6 ve %71,9'a yükselmiştir. Aynı 217 gönüllünün, delta varyantına göre $\geq 1/12$ oranında seyreltme ile de nötralizan antikor varlığı ise TURKOVAC ve CoronaVac gruplarında başlangıçta sırasıyla %2,9 ve %10,5 iken, aşı sonrası 28. günde sırasıyla %52,4 ve %27,2'ye yükselmiştir.

Çalışmanın sonuçlarıyla yapılan analize göre IgG-Spike pozitiflik oranı TURKOVAC ve CoronaVac gruplarında rapel doz aşı öncesi sırasıyla %57,3 ve %57,9 iken, aşı sonrası 28. günde bu oran sırasıyla %98,1 ve %97,4'e yükselmiştir. İmmünojenite analizlerine ait tablo ve grafikler aşağıda etkililik sonuçları başlığı altında sunulmaktadır.

Sonuç olarak, güvenlilik açısından TURKOVAC ve CoronaVac kollarına ait ilgili verilere bakıldığında her iki grupta da güvenliliği tehdit eden herhangi bir bulguya rastlanmamıştır. Sistemik ve lokal advers olaylardan hiçbiri klinik şüphe yaratmamış olup çalışmayı olumsuz etkilememiştir. Bu veriler ışığında çalışma kapsamında kullanılmış olan inaktif COVID-19 aşılarının rapel dozlarının güvenli olduğu görülmüştür. Rapel doz aşılamanın etkililiği açısından da, TURKOVAC ve karşılaştırma ürünü olan CoronaVac kolları arasında belirgin bir farklılık görülmemiştir. Rapel doz olarak uygulanan her iki aşı da kabul edilebilir bir güvenlik profiliyle antikor titrelerinde artışa yol açmıştır.

EK-4: Makale-Rapel Faz 2 “*Safety and immunogenicity of inactive vaccines as booster doses for COVID-19 in Türkiye: Arandomized trial*”



IV-TURKOVAC KLİNİK ARAŞTIRMALARI

2 BİONTECH COVID'19 AŞISI SONRASI RAPEL FAZ IIB



IV-TURKOVAC KLİNİK ARAŞTIRMALARI-2 BIONTECH COVID'19 AŞISI SONRASI RAPEL FAZ IIB

IV.I Çalışma Başlığı:

“SARS-CoV-2'ye Rapel Aşılamanın (TURKOVAC) Etkililiğini, Güvenliliğini ve İmmünojenitesini Belirlemek için Tek Kollu, Açık Etiketli, Çok Merkezli, Faz 2b Klinik Çalışma”

IV.II. Çalışma Kodu:

Protokol kodu: TSB-VAC-COV-TUR-RF2B.05

IV.III. Çalışmanın Yapıldığı Merkezler ve Araştırmacı Bilgileri:

IV.III.I. Koordinatör Merkez:

Ankara Bilkent Şehir Hastanesi

IV.III.II. Koordinatör Araştırmacı:

İdari Koordinatör: Doç. Dr. İhsan Ateş

Koordinatör Araştırmacı: Doç. Dr. Bedia Dinç

IV.III.III. Çalışmanın Yapıldığı Diğer Merkezler ve Sorumlu Araştırmacıları:

Tablo 4.1 BNT sonrası klinik araştırmanın merkezleri ve sorumlu araştırmacıları

KLİNİK ARAŞTIRMA MERKEZLERİ	ARAŞTIRICILAR
<ul style="list-style-type: none">Ankara Bilkent Şehir Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Birimi	<ul style="list-style-type: none">Doç. Dr. Bedia Dinç
<ul style="list-style-type: none">Prof. Dr. Cemil Taşcıoğlu Şehir Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyoloji Kliniği	<ul style="list-style-type: none">Prof. Dr. Funda Şimşek
<ul style="list-style-type: none">İzmir Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği	<ul style="list-style-type: none">Prof. Dr. Şükran KÖSE



<ul style="list-style-type: none">İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı	<ul style="list-style-type: none">Prof. Dr. Ömer Fehmi TABAK
<ul style="list-style-type: none">Başakşehir Çam ve Sakura Şehir Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği	<ul style="list-style-type: none">Prof. Dr. Özlem Altuntaş Aydın
<ul style="list-style-type: none">Abant İzzet Baysal Üniversitesi İzzet Baysal Eğitim Araştırma Hastanesi	<ul style="list-style-type: none">Dr. Öğr. Üyesi Muhammed Emin Demirkol
<ul style="list-style-type: none">Kayseri Şehir E.A.H., Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji A.B.D.	<ul style="list-style-type: none">Prof. Dr. İlhami Çelik
<ul style="list-style-type: none">SBÜ Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi	<ul style="list-style-type: none">Uzm. Dr. Remziye Nur Eke
<ul style="list-style-type: none">S. B. Üniversitesi Derince Eğitim Araştırma Hastanesi	<ul style="list-style-type: none">Uzm. Dr. Selcan Arslan Özel

IV.IV. Çalışmada Kullanılan Ürünler:

Bu çalışmada kullanılacak olan araştırma ürünü inaktif COVID-19 aşısı olan TURKOVAC'tır. TURKOVAC aşısının dozu 3 µg/ 0.5 ml olacaktır ve deltoid kas içine enjeksiyon yolu ile uygulanacaktır. Bu çalışmada Dollvet Veteriner Aşı İlaç Biyolojik Madde Üretim San. ve Tic. A.Ş. tarafından üretilmiş ve TURKOVAC-Dollvet olarak tanımlanmış

IV.V. Çalışma Dizayını:

Bu Faz IIB çalışma, klinik kullanım onayı almış aşılardan olan ve Türkiye'de ulusal aşı programı dahilinde kullanılmakta olan Comirnaty (Kod adı: BNT162b2) aşısı iki doz uygulanarak immun sistemi prime edilmiş olan gönüllülerde, rapel doz olarak TURKOVAC aşısı ile aşılandıklarında oluşacak immun yanıtı değerlendirebilmek amacıyla tasarlanmıştır.

Çalışma merkezlerinde kaydı bulunan veya çalışma merkezine yeni başvurmuş sağlıklı gönüllüler çalışmaya davet edilecektir. Gerekğinde telefon veya SMS aracılığıyla gönüllülere ulaşılarak çalışmaya davet edileceklerdir. Bu gönüllülere çalışma ekibi tarafından çalışmanın amacı ve prosedürleri hakkında bilgi verilecek, çalışmaya katılmak isteyen gönüllülerden bilgilendirilmiş gönüllü olur formunu (BGOF'u) imzalamaları istenecektir. Form iki kopya halinde imzalanacak, bir kopyası çalışma merkezinde kalacak, bir kopyası ise gönüllüye teslim edilecektir. Tüm gönüllüler, bu çalışmaya ait herhangi spesifik bir değerlendirme veya prosedürün uygulanmasından önce Etik Kurul tarafından onaylanmış en güncel tarihli BGOF'u imzalamış olmalıdır.



Çalışmaya katılmayı kabul edip BGOF'u imzalayan gönüllülere gerekli testler yapılacaktır. Bu çalışma için tasarlanmış olan ORF, gönüllünün dahil etme/dışlama kriterlerine göre çalışmaya uygun olup olmamasına bakılmaksızın, taramaya tabii tutulmuş her bir gönüllü için doldurulacaktır. Dahil etme ve dışlama kriterlerine uygun olan gönüllüler çalışmaya dahil edileceklerdir. Gönüllülerin çalışmaya katılması için dahil etme/dışlama kriterlerinin tamamını karşılamaları gerekmektedir.

Comirnaty (Kod adı: BNT162b2) aşısının ilk kürünün 2. dozundan sonra en az 180 gün ve en fazla 240 gün geçmiş olan gönüllülere rapel doz aşısı (TURKOVAC) uygulanacaktır. Aşılama taramadan bir gün sonra yapılabilir.

IV.V.I. Çalışmanın Amacı:

Birincil Amaç:

Çalışmanın birincil amacı Comirnaty (Kod adı: BNT162b2) aşısının 2. Dozu uygulandıktan sonra en az 180 gün ve en fazla 240 gün geçirmiş gönüllülere uygulanan TURKOVAC aşısının rapel dozunun etkililiğini değerlendirmektir. Etkililik 28 ve 84. günlerde spike spesifik antikor yanıtı ve nötralizan antikor seviyeleri ile değerlendirilecektir.

İkincil Amaç:

- Çalışmanın ikincil amacı gönüllülerde TURKOVAC aşısının güvenliliğini değerlendirmektir.
- gönüllülerde TURKOVAC aşısının güvenliliğini değerlendirmek,
- farklı üretim tesislerinde üretilmiş olan farklı seri TURKOVAC aşılarının (TURKOVAC-Koçak ve TURKOVAC-Dollvet) etkililik, güvenlilik ve immunojenisite sonuçlarını karşılaştırmaktır.

IV.V.II. Çalışmanın Süresi:

Araştırma süresi: Toplam Gönüllü temini ile birlikte yaklaşık olarak 9-12 ay olarak planlanmaktadır.

Etik Komite Onay Tarihi: 19.01.2022

TİTCK Onay Tarihi: 21.01.2022

İlk Gönüllü Alım Tarihi (Araştırmanın başlangıcı); 24.01.2022 tarihinde ilk gönüllünün alınmasıyla başladı.

Son Gönüllü Alım Tarihi; Devam ediyor

Sonlanım noktası: Şu an 64 gönüllü var. Çalışma devam ediyor.

IV.VI. Çalışma Metodolojisi:

Klinik Araştırmanın Sonuçların Değerlendirmesi Planı / Metodolojisi

BGOF'u imzalayan tüm gönüllülere aşı öncesi SARS-CoV-2 PCR testi yapılacak, sonuç beklenmeden aşılama yapılacaktır. Sonucu pozitif çıkan gönüllüler çalışma dışı bırakılacaktır. Ayrıca kadın gönüllüler için aşı uygulaması öncesinde gebelik testi (idrar stribi ile test edilecektir) yapılacak ve pozitif çıkanlar çalışma dışı bırakılacaktır. Rapel aşı dozu öncesinde



ve doz yapıldıktan sonra 30. dakika, 28. gün, 84. gün ve 168. günde gönüllülerin vital bulguları (kulaktan vücut ısısı ölçümü, oksijen saturasyonu, kan basıncı ve solunum sayısı) ölçülecektir. Tüm gönüllüler aşı sonrası 30 dakika boyunca döküntü, dilde şişme, aşı yapılan kolda ağrı, şişlik, kızarıklık, uyuşma da dahil olmak üzere advers olaylar açısından izleneceklerdir. Advers olaylar uygulama sonrası 7 gün süresince günlük olarak, sonrasında 168. güne kadar haftalık olarak telefon vizitleri ile rutin takip edilecektir. Advers olayların şiddeti, başlama zamanı, süresi ve varsa tarihiyle birlikte hastaneye başvuru ya da yatış gereksinimi ORF'ye kaydedilecektir. Ayrıca güvenliliğin takibi için elektrokardiyografi çekimi ve klinik laboratuvar incelemeler (kan ve idrar örnekleri ile) de yapılacaktır.

Tüm gönüllülerden 0, 28. ve 84. günlerde SARS-CoV-2 nötralizan antikor ve anti-spike protein IgG miktarı değerlendirilecektir.

Klinik laboratuvar değerlendirmeleri için her gönüllüden planlanmış her ziyaret için 15 mL kan ve 15 mL idrar örneği alınacaktır (her iki tip örnek için de toplam 60 mL). İmmünojenisite değerlendirmeleri için ise her gönüllüden Ziyaret 1, 2 ve 3'te 12 mL kan örneği alınacaktır (toplam 36 mL). Böylece her gönüllüden çalışma süresince toplam 96 mL kan ve 60 mL idrar örneği toplanması planlanmıştır.

Gönüllüler yan etki değerlendirilmesi için 168. güne kadar izlenecektir.

28. ve 84. günlerdeki çalışma ziyaretlerinde akut solunum hastalığı (ateşli veya ateşsiz orta veya şiddetli hastalık) ile ateşi (kulaktan ölçümde 37,8°C'den yüksek) olan gönüllülerin ziyaretleri akut durum iyileştikten sonra yapılacaktır.

Çalışmada planlanan ziyaretler dışında meydana gelebilecek herhangi bir durum karşısında gönüllülere planlanmamış ziyaretler de yapılacaktır.

IV.VI. I. Etkinlik:

Değerlendirme Kriterleri;

İmmünojenisite incelemeleri için çalışma merkezinde kan alımı yapıldıktan sonra serum ayrılacak ve iki stok halinde saklanacaktır. Toplanan örnekler sevkiyat için yeterli sayıya ulaştığında uygun koşullar altında merkezi laboratuvara iletilecektir. Sevkiyat için uygun görülen yaklaşık örnek sayısı merkezi laboratuvar ile görüşülüp belirlenecektir. Spike spesifik antikor yanıtı ve T hücre yanıtı incelemeleri Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi laboratuvarında, nötralizan antikor yanıtları Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü laboratuvarında, pseudo nötralizan antikor yanıtları ise Omega-Pro Ar-Ge Laboratuvarında incelenecektir. Nötralizan antikor sonuçları Dünya Sağlık Örgütü'nde temin edilen standart serumlarla karşılaştırılmalı olarak çalışılacaktır.

IV.VI.II. Güvenlik:

Güvenlilik Ölçümleri;Bu çalışmadaki temel güvenlik parametreleri fizik muayene, vital bulgular, kan ve idrar örnekleri ile yapılan klinik laboratuvar değerlendirmeleri ve advers olay (AO)değerlendirmeleridir. Vital bulgular gönüllülerin vücut sıcaklığı (kulaktan ölçülecek), oksijen saturasyonu, kan basıncı (sistolik ve diyastolik), solunum sayısı ve kalp atım sayısı (nabız) olarak tanımlanmıştır.AO'lar ve vital bulgular çalışma akış şemasında belirtildiği şekilde sorgulanacak ve kaydedilecektir. AO'ların tanımı aşağıda yapılmıştır. Bu çalışmadaki gönüllüler, aşı ile ilişkisi olup olmadığına bakılmaksızın takip süresince deneyimledikleri tüm rahatsızlıkları bildireceklerdir. Advers olaylar (AO'lar) Çalışma boyunca gerçekleşen tüm AO'ları dokümanete etmek sorumlu



araştırmacının yükümlülüğündedir. Uluslararası Harmonizasyon Konseyine göre, bir AO bir farmakolojik ürünün gönüllüye veya klinik araştırma hastasına uygulanmasıyla, herhangi bir istenmeyen tıbbi olayın oluşmasıdır ve bu tedaviyle nedensel bir ilişkisinin olması gerekmemektedir. Bundan dolayı bir AO; istenmeyen ve amaçlanmayan bir belirti (örneğin anormal bir laboratuvar bulgusunu içerecek şekilde), semptom veya tıbbi ürünle ilişkili olsun veya olmasın tıbbi ürünün kullanımıyla ilişkili geçici hastalık olabilir. Daha önceden mevcut durumların çalışma esnasında kötüleşmesi AO olarak bildirilmelidir.

AO raporlama periyodu:İlaç uygulamasının ardından gerçekleşecek herhangi bir AO kayıt altına alınmalıdır. Raporlama süreci hastanın bilgilendirilmiş gönüllü olur formunu imzalamasının ardından ilacın takip vizitine kadar geçen süreci kapsamaktadır. Her bir olayın açıklaması, tarihi, saati, süresi, şiddeti ve çalışma ilacıyla olası ilişkisi belirtilmelidir. Ayrıca AO nedeniyle dozaj veya uygulama sayısındaki olası değişiklikler, eğer var ise AO'yu gidermek amacıyla kullanılan tedaviler de kayıt altına alınacaktır. Her bir AO'nun sonucu mutlaka rapor edilecektir. AO Derecelendirmesi; AO şiddeti, beş kademeli ölçek ile değerlendirilecektir:

Derece 1 - Hafif: Semptomların farkında olunması ancak bunların günlük aktiviteleri etkilememesi durumunda AO "hafif" olarak tanımlanacaktır.

Derece 2 - Orta: Semptomların rahatsız etmesi ve günlük aktiviteleri belirgin düzeyde olumsuz etkilemesi durumunda AO "orta" olarak tanımlanacaktır.

Derece 3 - Şiddetli: Gönüllünün günlük aktiviteleri gerçekleştirememesi durumunda AO "şiddetli" olarak tanımlanacaktır.

Derece 4 - Hayatı tehdit edici: Araştırmacı tarafından gönüllüde ölüm riski oluşturacak derecede olduğu düşünülen AO'lar "hayatı tehdit edici" olarak tanımlanacaktır.

Derece 5 - Ölüm: Gönüllünün herhangi bir AO nedeniyle ölmesi durumunda tanımlanacaktır. AO'ların şiddet ve derecelerinin belirlenmesinde öncelikle Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA)'nin 2007 yılında yayınlamış olduğu, "Koruyucu Aşı Çalışmalarına Katılan Erişkin ve Adolesan Sağlıklı Gönüllüler için Toksisitenin Derecelendirilmesi" kılavuzundan faydalanılacaktır. Bu kılavuzda aşı çalışmalarında görülebilen lokal ve sistemik reaksiyonlar, yaşamsal bulgular ve laboratuvar bulguları için referans aralıkları tanımlanmış ve bu aralıklara göre derecelendirme önerileri verilmiştir. Olası diğer yan etkilerin derecelendirilmesi için Advers Olaylar için Ortak Terminoloji Kriterleri (Common Terminology Criteria for Adverse Events [CTCAE]) Versiyon 5.0 kullanılacaktır.

İlişkilendirme Sınıflandırması; Üç kademeli ilişkilendirme ölçütü aşağıda belirtilen kriterler baz alınarak kullanılacaktır:

İlişkili: Tedavi ile arasında makul bir zaman ilişkisi olan olay

İlişkili Değil: Tedavi ile arasında makul bir zaman ilişkisi mümkün olmayan olay

Bilinmiyor: Sağlanan bilginin yetersiz veya çelişkili olması nedeniyle ilişkinin değerlendirilemiyor olması veya verinin sağlanamıyor veya doğrulanamıyor olması

Ciddi Advers Olay (CAO); Ciddi advers olay; önemli bir tehlike, kontrendikasyon, yan etki veya önlemleri düşündürülen herhangi bir yaşanan olaydır. CAO, herhangi bir dozda aşağıdaki kriterlerden en az birine karşılık gelen bir olaydır:



- Ölümcül (Hastanın ölümü ile sonuçlanan*; Not: ölüm bir sonuçtur, olay değildir)
- Yaşamı tehdit edici (Not: “yaşamı tehdit edici” terimi hastayı olay sırasında ölüm tehlikesine sokan olayları kastetmektedir, daha ağır olması halinde ölüme sebebiyet verebileceği farz edilen olayları kastetmemektedir.)
- Hastaneye yatışı veya hastanede kalış süresinin uzamasını gerektiren olaylar,
- Kalıcı veya belirgin sakatlık/ yetersizlikle sonlanan olaylar: Doğuştan anomali/doğum kusuru
- Tıbbi olarak önemli olan veya yukarıda sıralanan sonuçların biri veya diğerlerini önlemek için müdahale gerektiren olaylar

*Ani ölüm deyimi, standart tanımlamaya göre ölüm nedeni yalnızca kardiyak orijinli ise kullanılmalıdır. Ölüm ve ani ölüm deyimleri birbirinden tamamen farklıdır ve birbirinin yerine kullanılmamalıdır.

Advers Olay Süreç Yönetimi; Tüm CAO'lar en geç 24 saat içerisinde destekleyiciye bildirilecektir. Advers olayların gerekli birimlere bildirilmesinden destekleyici sorumludur. Ciddi olmayan AO'ların bildirimleri yerel regülasyonların belirlediği sıklıkta destekleyici tarafından uygun şekilde yapılacaktır. Çalışmanın araştırmacısı AO yaşayan hastayı olay çözümlenene dek takip etmekle yükümlüdür. Ayrıca çalışmanın araştırmacısı, hasta çalışmadan çekilmiş veya düşürülmüş veya çalışma tamamlanmış dahi olsa tüm CAO ve AO yaşayan hastaları olay çözümlenene dek takip etmek zorundadır. Tüm CAO'lar farmakovijilans ekibi tarafından işleme uygun standart operasyon prosedürleri doğrultusunda değerlendirilecektir. Değerlendirme süreci ile ilgili bir rapor yazılıp arşivlenecektir. Ciddi advers olayın görülme ihtimali araştırmacı broşürü ve kısa ürün bilgisi ile kıyaslanacak ve Çalışma Ana Dosyası (ÇAD)'na referans bilgi olarak kaydedilecektir. Güvenlilik Verisi Teyidi Veri işlenmesi sırasında, veri tabanı kilitlenmeden önce ilgili veri yöneticisi oluşturulan AO listesini destekleyiciye iletilecek ve verilerin harmonizasyonu sağlanacaktır. Belirtilen AO listesi en az çalışma merkezi numarası, araştırmacı bilgisi, hasta numarası, doğum tarihi, cinsiyet, AO tanısı, MedDRA kodlamaları, AO başlangıç ve bitiş tarihleri, AO süresi, AO ciddiyeti, AO şiddeti, AO'nun çalışma ilacı ile ilişkisi, AO'yu gidermek için alınan aksiyon, AO'nun sonucu bilgilerini içermelidir. Sayımlardaki olası uyumsuzluklar iki ekip tarafından işbirliği içerisinde çözülecektir.

İstatistik analiz planı;

Bu çalışmanın etkililik sonlanım noktaları immün cevap üzerinden belirlenecektir. Bunlar 28, 48, 84 ve 168. günlerde ölçülecek olan SARS-CoV2 nötralizan antikor titreleri, SARS-CoV2 pseudo nötralizan antikor titreleri, SARS-CoV2 anti-spike protein IgG miktarları ve T hücre yanıtlarıdır. Birincil sonlanım noktaları için başarı ölçütleri aşağıdaki tabloda tanımlanmıştır. Sonlanım Noktası Başarı Ölçütü SARS-CoV2 nötralizan antikor titresi 28. gün geometrik ortalama titresinde(GMT'de) 2 kat artış SARS-CoV2 pseudo nötralizan antikor titresi 28. gün geometrik ortalama titresinde (GMT'de) 2 kat artış SARS-CoV2 anti-spike protein IgG miktarı 28. gün geometrik ortalama konsantrasyonunda (GMC'de) 2 kat artış hücre yanıtları Anamnestik cevabın görülmesi İkincil etkililik sonlanım noktası olan TURKOVAC aşısı uygulandıktan sonra PCR testi ile COVID-19 pozitifliği saptanan gönüllülerin oranı tanımlayıcı olarak incelenecektir, bu sonlanım noktası için bir başarı ölçütü tanımlanmamıştır.

Güvenlilik Sonlanım Noktaları;Güvenlilik sonlanım noktaları aşağıdaki gibidir:



- Advers olayların (AO) ve Ciddi Advers Olayların (CAO) sayıları ve özellikleri (olayın tanımı, çalışma ilacına bağlı olanların oranı),
- Yaşamsal bulgularda başlangıç değerlerine göre değişim

Örneklem Büyüklüğünün Hesaplanması;

Örneklem büyüklüğü hesabı PASS (NCSS Corp. Released 2011. Power Analyzes Sample Size for Windows, Version 11.0. Utah, USA) paket programı kullanılarak yapılmıştır. TURKOVAC aşısı uygulandıktan sonra oluşacak immün yanıtın %50 üzerinde olmasını %5 keskinlik ile %95 güven aralığında gösterebilmek için çalışmanın her bir araştırma ürünü kolunda 402 gönüllünün dahil edilmesi gerekmektedir. Çalışma süresince takipten düşebilecek hastalar da (yaklaşık %25) göz önüne alındığından her bir kola en az 517 gönüllünün dahil edilmesi planlanmaktadır. Buna göre çalışmaya 1034 gönüllü dahil edilecektir. İzlem döneminde takipten düşen gönüllülerin yerine yeni gönüllü alınmayacaktır.

Analiz Popülasyonu; Çalışmanın etkililik analizi, TURKOVAC aşısı uygulandıktan sonra 28. Gün vizitini gerçekleştirmiş ve immünojenisite verisi eksiksiz (analiz sonuçları tamamlanmış) olan tüm gönüllüler (etkililik popülasyonu) üzerinden yapılacaktır. Çalışmanın güvenlilik analizi ise TURKOVAC aşısı uygulanmış olan güvenlilik popülasyonu üzerinden yapılacaktır.

İstatistiksel Metotlar; Bu Faz 2b klinik araştırma çalışması esas olarak immünojenisite parametrelerini tanımlayıcı istatistik ile değerlendirmeyi amaçlamaktadır. İstatistiki analiz, prensip olarak ölçme amacıyla uygulanacaktır. Analizler gönüllüye uygulanmış olan son doz Comirnaty aşısından sonra rapel doz TURKOVAC aşısının ilk dozuna kadar geçen süreye göre en az 2 katmana katmanlandırılarak yapılacaktır. SARS-CoV-2 nötralizan antikor titreleri, SARS-CoV-2 pseudo nötralizan antikor titreleri, SARS-CoV2 anti-spike protein IgG miktarları ve T hücre seviyeleri için her kan alım noktasında geometrik ortalama titreleri/konsantrasyonları (GMT/GMC) hesaplanacaktır. Gönüllüler tarafından bildirilen veya muayenede araştırmacılar tarafından saptanan advers olaylar Medical Dictionary for Regulatory Activities (MedDRA) kullanılarak sistem organ sınıfı ve tercih edilen terimler üzerinde tanımlanacak ve değerlendirmeler bu terimler üzerinden yapılacaktır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi P değerinin 0,05'ten küçük olması durumu olarak kabul edilecektir. Hastalık gelişimi ve aşı başarısızlığı için risk faktörleri (örneğin yaş, cinsiyet, önceden var olan hastalıklar, meslek süresi ve doğası, yaşam koşulları, komorbidite) tanımlayıcı istatistiklerle özetlenecek ve uygun testler kullanılarak vakalar ve kontroller (hastalığı olmayanlar) karşılaştırılarak belirlenecektir. Verilerin normalliği, görsel (histogram ve olasılık grafikleri) ve analitik (Kolmogorov-Smirnov / Shapiro-Wilk testleri) yöntemler kullanılarak test edilecektir. Tanımlayıcı istatistikler sayısal değişkenler için ortalama, standart sapma, medyan ve minimum-maksimum olarak ifade edilecektir. Kategorik değişkenler ise sayı ve yüzde olarak ifade edilecektir. Sürekli değişkenler gruplar arasında Mann-Whitney U testi ile ve gruplar içinde eşleştirilmiş T testi ile karşılaştırılacak ve sürekli değişkenlerin ilişkileri Pearson korelasyon katsayısı veya Spearman sıra korelasyon testi ile değerlendirilecektir. Ki kare veya Fisher'in kesin testi, gruplar arasındaki oranları karşılaştırmak için kullanılacaktır. Spesifik sonuçlarla ilişkili ortak değişkenler (açıklayıcı değişkenler) hakkındaki kategorik veriler, Ki-Kare tabloları (ör. Kruskal-Wallis ki-kare popülasyonların eşitliği testi) veya tek değişkenli ve çok değişkenli analizde 2 x 2 ve 2 x 4 tabloları kullanarak, %95 güven aralıkları ile olasılık oranları hesaplanarak da analiz edilebilir ve sonuç değişkeni olarak ilgilenilen sonucun ve açıklayıcı değişkenler olarak demografik veriler, gönüllü özgeçmişi, klinik veriler gibi diğer tüm değişkenlerin kullanılmasıyla koşulsuz lojistik regresyon kullanılarak modellenecektir.

Ara Analiz; Bu çalışmada 100 gönüllünün 28. Gün immünojenisite verisi tamamlandığında etkililiğin değerlendirileceği bir ara analiz planlanmaktadır.



IV.VII. Sonuçlar:

Analizler 22.07.2022 tarihli veriye göre yapılmıştır. Verilerin ham hali kullanılmış olup query çalışması devam etmektedir, bu durumda mükerrer girişler ve hatalı girişler olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. 11 gönüllüde toplam 22 advers olay gözlenmiştir.

Tablo 4.2. Merkeze göre gönüllü sayısı ve Covid'19 vaka sayısı

Merkeze Göre Gönüllü Sayısı <u>Ve</u> Covid-19 Vaka Sayısı		
Merkez	Gönüllü Sayısı	Covid Pozitif Sayısı
1101- Ankara Şehir Hastanesi	16	2
1102- Prof. Dr. Cemil Taşçıoğlu Şehir Hastanesi	1	0
1103- S.B.Ü Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi	1	0
1106- Abant İzzet Baysal Üniversitesi İzzet Baysal E.A.H	2	0
1108- S.B.Ü. Antalya Eğitim Araştırma Hastanesi	19	1
1109- S.B.Ü. Derince Eğitim Araştırma Hastanesi	23	0
Toplam	62	3

IV.VII. I. Etkinlik Sonuçları:

Etkinlik çalışmaları devam etmektedir, değerlendirmeler sonra eklenecektir.

IV.VII.II. Güvenlik Sonuçları:

Tablo 4.3 Bildirilen AO lokal ve sistemik dağılımı

Bildirilen Advers Olayların Lokal <u>Ve</u> Sistemik Bazında Dağılımı		
	Advers Olay	Advers Olay Sayısı
Lokal	Toplam	5
	Enjeksiyon Bölgesinde Ağrı	5
Sistemik	Toplam	17
	Boğaz Ağrısı	3
	Baş Ağrısı	2
	Burun Akıntısı	2
	Halsizlik	2
	İdrarda Eritrosit Yüksekliği	2
	Eklem Ağrıları	1
	Kas Ağrıları	1
	İdrar Yaparken Yanma	1
	Öksürük	1
	Üşüme	1
	Yorgunluk	1

*Covid-19 tanısı almış gönüllülerden Covid-19 semptomu kabul edilen advers olaylar dahil edilmemiştir.

IV.VII.III Genel Sonuç:

Çalışma devam ettiğinden sonuç bölümü çalışma tamamlandığında eklenecektir.



V-TURKOVAC KLİNİK ARAŞTIRMALARI

ERGEN FAZ IIB



V-TURKOVAC KLİNİK ARAŞTIRMASI- ERGEN FAZ IIB

V.I Çalışma Başlığı:

“Sağlıklı Ergen (16-18 Yaş) Gönüllülerde İki Doz İnaktif COVID-19 Aşısına(TURKOVAC) Karşı İki Doz CoronaVac (Sinovac) Aşısının Etkiliğinin, İmmünojenitesinin ve Güvenliliğinin Değerlendirildiği, Çok Merkezli, Randomize, Gözlemci Kör Faz IIB Klinik Çalışma”

V.II. Çalışma Kodu:

Protokol kodu: TSB-VAC-COV-TUR-EF2B.06

V.III. Çalışmanın Yapıldığı Merkezler ve Araştırmacı Bilgileri:

V.III. I. Koordinatör Merkez:

Ankara Bilkent Şehir Hastanesi Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği

V.III.II. Koordinatör Araştırmacı:

Prof. Dr. Aslınur ÖZKAYA PARLAKAY

V.III.III. Çalışmanın Yapıldığı Diğer Merkezler ve Sorumlu Araştırmacıları:

Tablo 5.1 TURKOVAC Ergen klinik araştırmasının merkezleri ve sorumlu araştırmacıları tablola

KLİNİK ARAŞTIRMA MERKEZİ	ARAŞTIRICILAR
<ul style="list-style-type: none">Ankara Bilkent Şehir Hastanesi Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği	<ul style="list-style-type: none">Prof.Dr.AslınurÖZKAYA PARLAKAY
<ul style="list-style-type: none">Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Enfeksiyon Bilim Dalı	<ul style="list-style-type: none">Doç. Dr. Derya ALABAZ
<ul style="list-style-type: none">Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı Hastalıkları Anabilim Dalı	<ul style="list-style-type: none">Prof. Dr.Nuri Zafer KURUGÖR
<ul style="list-style-type: none">SBÜ Adana Şehir Eğitim ve Araştırma Hastane Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği	<ul style="list-style-type: none">Prof. Dr. Ümit Çelik
<ul style="list-style-type: none">Prof. Dr. Cemil Taşçıoğlu Şehir Hastanesi, Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği	<ul style="list-style-type: none">Doç. Dr. Adem KARBUZ
<ul style="list-style-type: none">Ankara Üniversitesi Tıp fakültesi Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları Bilim Dalı	<ul style="list-style-type: none">Prof. Dr. Ergin ÇİFTÇİ



<ul style="list-style-type: none">İzmir SBÜ Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi	<ul style="list-style-type: none">Prof. Dr. İlker DEVRİM
<ul style="list-style-type: none">Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastaneler Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları Bilim Dalı	<ul style="list-style-type: none">Dr. Öğr. Üyesi Benhur ŞİRV ÇETİN
<ul style="list-style-type: none">Marmara Üniversitesi İstanbul Pen dik Eğitim Araştırma Hastanesi, Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği	<ul style="list-style-type: none">Doç. Dr. Eda KEPENEK KADAYIFCI
<ul style="list-style-type: none">Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi	<ul style="list-style-type: none">Prof. Dr. Orhan DERMAN
<ul style="list-style-type: none">İzmir SBÜ Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği	<ul style="list-style-type: none">Prof. Dr. Dilek YILMAZ ÇİFTDOĞAN
<ul style="list-style-type: none">İstanbul Şişli Hamidiye Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Enfeksiyon Kliniği	<ul style="list-style-type: none">Prof. Dr. Nazan DALGIÇ
<ul style="list-style-type: none">İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Pediatrik İnfeksiyon Hastalıkları Bilim Dalı	<ul style="list-style-type: none">Prof. Dr. Ayper SOMER
<ul style="list-style-type: none">Eskişehir Osmangazi Üniversitesi	<ul style="list-style-type: none">Prof. Dr. Ener ÇAĞ DİNLEYİCİ

V.IV. Çalışmada Kullanılan Ürünler:

Bu çalışmada kullanılacak olan araştırma ürünü inaktif COVID-19 aşısı adayı olan TURKOVAC'tır.

Bu çalışmada Dollvet Veteriner Aşı İlaç Biyolojik Madde Üretim San. ve Tic. A.Ş. tesisinde üretilmiş TURKOVAC aşısı kullanılacaktır. TURKOVAC aşısının dozu 3 µg/ 0.5 mL olacaktır. Önerilen uygulama bölgesi, üst kolun sol deltoidine kas içi enjeksiyondur.

Karşılaştırma ürünü: İnaktif COVID-19 CoronaVac (Sinovac) Aşısı Karşılaştırma ürünü (CoronaVac), 0,5 mL/ dozda 600SU SARS-CoV-2 virüs antijeni içerir. Bu çalışmada CoronaVac aşısının dozu 3 µg/ 0.5 mL olacaktır. Önerilen uygulama bölgesi, üst kolun sol deltoidine kas içi enjeksiyondur.



V.V. Çalışma Dizaynı:

Bu çalışma ulusal, çok merkezli, randomize, iki kollu, gözlemci kör, aktif kontrollü bir Faz III klinik araştırma çalışması olarak tasarlanmıştır. Çalışma 16-18 yaş aralığındaki yaklaşık 644 sağlıklı ergen gönüllüyü dahil edecek şekilde gerçekleştirilecektir. Her kolda 322 gönüllü çalışmaya alınacaktır.

Çalışmaya dahil edilecek olan gönüllüler, ya 2 doz olarak uygulanacak olan 0.5 mL inaktif çalışma aşısı olan TURKOVAC ya da 2 doz olarak uygulanacak olan 0.5 mL CoronaVac aşısı olmak üzere IWRS (Etkileşimli Web Tabanlı Yanıt Sistemi) kullanılarak rastgele iki koldan birine 1:1 oranında atanacaktır. Gönüllülerin uygunluğunun değerlendirileceği ve bilgilendirilmiş onamın alınacağı bir tarama vizitinde (0. gün) gerekli muayeneler yapıp prosedürler uygulanacak ve PCR testi için bir burun-boğaz sürüntüsü alınacaktır. Merkeze gelen gönüllülere randomizasyon programına göre 0. gün ve 28. gün (\pm 2 gün) olmak üzere intramusküler olarak iki kez aşı uygulaması yapılacaktır. Tüm gönüllüler, akut reaksiyonların gelişmesine karşı aşılardan sonra en az 30 dakika çalışma merkezinde gözlemlenecektir. Tüm gönüllüler, klinik takip için birinci doz aşı uygulamasından 3 gün (+ 2 gün) sonra çalışma merkezine gelecektir. IWRS sistemi tüm gönüllüleri her aşıdan sonraki 6 gün boyunca her gün ve aşı olduktan sonraki hafta (aşılama sonrası 7. gün) itibarıyla son çalışma vizitine (392. güne) kadar haftalık olarak telefonla arayarak herhangi bir advers olayı kendi merkezlerindeki veya çağrı merkezindeki araştırma ekibine bildirmelerini hatırlatacaktır. Bir başvuru/yönlendirme sistemi kurulacak ve tüm ciddi istenmeyen yan etkiler yönetilecek ve yerel düzenlemelere göre gerekli hastaneye yatış/ tedavi sağlanacaktır. Aşılama takibin tüm ciddi istenmeyen yan etkiler fark edilmelerinin ardından 24 saat içinde Etik Kurula, Sağlık Bakanlığı'na ve çalışma destekleyicisine bildirilecektir. Son doz aşılardan sonra 12 ay boyunca güvenlilik takibine devam edilecektir.

V.V.I. Çalışmanın Amacı:

Birincil Amaç:

- 1) RT-PCR ile doğrulanmış semptomatik COVID-19 hastalığına karşı iki doz TURKOVAC ile iki doz CoronaVac aşılarının klinik etkililiğini ergenlerde (16-18 yaş) değerlendirmek.
- 2) İkinci doz aşı uygulaması sonrasında TURKOVAC ve CoronaVac aşılarının immünolojik yanıtlarının nötralizan antikor ve anti-spike antikor ile gösterilmesi.

İkincil Amaçlar:

- 1) RT-PCR ile doğrulanmış semptomatik COVID-19 hastalığına karşı birinci doz TURKOVAC ile birinci doz CoronaVac aşılarının klinik etkililiğini değerlendirmek.
- 2) RT-PCR ile doğrulanmış semptomatik COVID-19 hastalığına karşı ikinci doz TURKOVAC ve ikinci doz CoronaVac aşılarının klinik etkililiğini değerlendirmek.
- 3) İstenmeyen reaksiyonların ve ciddi istenmeyen etki reaksiyonların insidansını belirleyerek TURKOVAC ve CoronaVac aşılarının güvenliliğini değerlendirmek.
- 4) TURKOVAC ve CoronaVac aşılarının immünojenitesini değerlendirmek.



5) TURKOVAC ve CoronaVac aşılarının birinci ve ikinci doz sonrası serokonversiyon oranını belirlemek.

6) TURKOVAC veya CoronaVac aşıları ile aşılanmış tüm gönüllülerde tarama günü (0. gün), birinci dozdan 28 (± 2) gün sonra ve kapatma vizitinde (392. gün), Uzun Dönem Nötralizan Antikor Alt Grubu'ndaki gönüllülerde ise ilave olarak birinci dozdan 42 (± 5), 56 (± 5), 70 (± 5), 126 (± 5), 168 (± 5) ve 224 (± 5) gün sonra SARS-CoV2'ye özgü bağlayıcı antikorun seropozitiflik oranını belirlemek.

7) TURKOVAC veya CoronaVac aşıları ile aşılanmış tüm gönüllülerde tarama günü (0. gün), birinci dozdan 28 (± 2) gün sonra, Uzun Dönem Nötralizan Antikor Alt Grubu'ndaki gönüllülerde ise ilave olarak birinci dozdan 42 (± 5), 56 (± 5), 70 (± 5), 126 (± 5), 168 (± 5) ve 224 (± 5) gün sonra nötralizasyon testi ile SARS-CoV2 nötralize edici antikorlarını değerlendirmek.

8) TURKOVAC veya CoronaVac aşıları ile aşılanmış gönüllüler arasından Uzun Dönem Nötralizan Antikor Alt Grubu'na dahil edilen gönüllüler arasındaki 50'şer kişide tarama günü (0. Gün) ve birinci dozdan 28 (± 2 gün) 42 (± 5), 56 (± 5), 70 (± 5), 126(± 5) ve 224 (± 5) gün sonra SARS-CoV2 protein peptit havuzuna özgü T hücrelerini (T hücresi aktivasyonunu) değerlendirmek.

9) RT-PCR ile doğrulanmış, gelişmesi durumunda şiddetli COVID-19 hastalığına karşı hastanede yatışı ve ölümü engellemede iki doz TURKOVAC ve iki doz CoronaVac aşılarının klinik etkililiğini değerlendirmek.

V.V.II. Çalışmanın Süresi:

Araştırma süresi: Toplam Gönüllü temini ile birlikte yaklaşık olarak 18 ay olarak planlanmaktadır.

TİTCK Onay Tarihi: 21.01.2022

İlk Gönüllü Alım Tarihi (Araştırmanın başlangıcı); Henüz gönüllü alınmadı

Son Gönüllü Alım Tarihi; Devam ediyor

Sonlanım noktası: Çalışma devam ediyor.

V.VI. Çalışma Metodolojisi:

Klinik Araştırmanın Sonuçların Değerlendirmesi Planı / Metodolojisi

Çalışmada gönüllülerin güvenilirlik ve immünojenisite verilerini izleyecek bağımsız uzmanlardan oluşan bir Bağımsız Veri İzleme Komitesi (BVİK) oluşturulacaktır. BVİK, bu çalışmaya araştırmacı olarak katılmalarına izin verilmeyecek ve çalışmanın sponsoruyla herhangi bir çıkar çatışması bulunmayan veya bu çalışma ile ilgili Etik Kurul toplantılarına katılmayan en az 3 üyeden oluşacaktır. BVİK, çocuk infeksiyon hastalıkları uzmanlarından oluşacaktır. Komite, çalışma boyunca gönüllülerin güvenilirlik ve etkililik verilerinin gözden geçirilmesi ve değerlendirilmesinden sorumlu olacaktır. Komite ayrıca güvenilirlik nedenleriyle herhangi bir zamanda çalışmayı sonlandırma hakkına sahip olacaktır.



Nötralize edici antikor ve immünojenisite analizi için her iki aşı kolunda toplam 322 aşılanmış gönüllünün kanından oluşan bir alt grup oluşturulacak ve bu alt grup “Uzun Dönem Nötralizan Antikor Alt Grubu” olarak adlandırılacaktır. Ayrıca sadece, Ankara’daki çalışma merkezlerinden çalışmaya dahil edilmiş olup Uzun Dönem Nötralizan Antikor Alt Grubu’na atanan gönüllüler arasından aynı 50’şer gönüllüde olmak üzere toplam 100 gönüllüde T hücre akvityasyon testi için ilave kan örnekleri alınacaktır. Uzun Dönem Nötralizan Antikor Alt Grubu’nda yer alan gönüllüler için klinik takip birinci doz aşı uygulamasından 3 gün (+ 2 gün), 42 (± 5), 56 (± 5), 70 (± 5), 126 (± 5), 168 (± 5) ve 224 (± 5) gün sonra gerçekleşecektir (Çalışma Akış Şeması’na bakınız). Gönüllülerin çalışmaya yaklaşık 12 ay süresince katılması beklenmektedir. Bu süre boyunca tespit edilen tüm advers olaylar değerlendirilecektir.

Gönüllü, potansiyel olarak COVID-19 hastalığına sahip olduğu düşünülen semptomlar yaşarsa, planlanmamış COVID-19 hastalık vizitleri gerçekleşecektir. Bu vizitte SARS-CoV-2 virüs tespiti için nazofarengeal sürüntü alınacak ve RT-PCR yapılacaktır.

V.VI.I. Etkinlik:

Değerlendirme Kriterleri;

Çalışma Merkezinde Yapılacak Laboratuvar Değerlendirmeleri; Çalışma merkezinde güvenlik takibi için rutin hematoloji ve serum biyokimya analizleri yapılacaktır.

• Hematoloji testleri: hemoglobin, hematokrit, trombosit, alyuvarlar, akyuvarlar (diferansiyel sayım dahil) PT ve aPTT ve diğer pıhtılaşma testleri

Biyokimya testleri: serum elektrolitleri (sodyum, potasyum, klor) kalsiyum, fosfat, albümin, BUN, total bilirubin, kreatinin, ürik asit, açlık kan şekeri, total protein, troponin, ALP, ALT, AST, LDH, GGT. Alınan örnekler çalışma merkezinin laboratuvarında incelenecektir.

Merkezi Laboratuvarında Yapılacak Değerlendirmeler; İmmünojenisite incelemeleri için çalışma merkezinde kan alımı yapıldıktan sonra serum ayrılacak ve iki alikot halinde saklanacaktır. Toplanan örnekler sevkiyat için yeterli sayıya ulaştığında uygun koşullar altında merkezi laboratuvara iletilecektir. Sevkiyat için uygun görülen yaklaşık örnek sayısı merkezi laboratuvar ile görüşülüp belirlenecektir. SARS-CoV-2 antikor için kan örneği (IgG testi -TOTAL) incelemeleri Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi laboratuvarında, mikronötralizan antikor yanıtları Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü laboratuvarında, pseudonötralizan antikor yanıtları ve T-hücre yanıtları ise Omega-Pro Ar-Ge Laboratuvarında incelenecektir. Nötralizan antikor sonuçları Dünya Sağlık Örgütü’nde temin edilen standart serumlarla karşılaştırmalı olarak çalışılacaktır.

V.VI.II. Güvenlik:

GÜVENLİLİK ÖLÇÜMLERİ; Bu çalışmadaki temel güvenlik parametreleri fizik muayene, vital bulgular, klinik laboratuvar değerlendirmeleri, elektrokardiyografi ve advers olay (AO) değerlendirmeleridir. Vital bulgular gönüllülerin vücut sıcaklığı (kulaktan ölçülecek), oksijen saturasyonu, kan basıncı (sistolik ve diyastolik), solunum sayısı ve kalp atım sayısı (nabız) olarak tanımlanmıştır.

AO’lar ve vital bulgular çalışma akış şemasında belirtildiği şekilde sorgulanacak ve kaydedilecektir. AO’ların tanımı aşağıda yapılmıştır. Bu çalışmadaki gönüllüler, aşı ile ilişkisi



olup olmadığına bakılmaksızın takip süresince deneyimledikleri tüm rahatsızlıkları bildireceklerdir.

Advers olaylar (AO'lar); Çalışma boyunca gerçekleşen tüm AO'ları dokümanete etmek sorumlu araştırmacının yükümlülüğündedir. Uluslararası Harmonizasyon Konseyine göre, bir AO bir farmakolojik ürünün gönüllüye veya klinik araştırma hastasına uygulanmasıyla, herhangi bir istenmeyen tıbbi olayın oluşmasıdır ve bu tedaviyle nedensel bir ilişkisinin olması gerekmemektedir. Bundan dolayı bir AO; istenmeyen ve amaçlanmayan bir belirti (örneğin anormal bir laboratuvar bulgusunu içerecek şekilde), semptom veya tıbbi ürünle ilişkili olsun veya olmasın tıbbi ürünün kullanımıyla ilişkili geçici hastalık olabilir. Daha önceden mevcut durumların çalışma esnasında kötüleşmesi AO olarak bildirilmelidir.

AO raporlama periyodu; Aşı uygulamasının ardından gerçekleşecek herhangi bir AO kayıt altına alınmalıdır. Raporlama süreci hastanın bilgilendirilmiş gönüllü olur formunu imzalamasının ardından son çalışma vizitine kadar geçen süreci kapsamaktadır.

AO Dokümantasyonu; Her bir olayın açıklaması, tarihi, saati, süresi, şiddeti ve çalışma aşısıyla olası ilişkisi belirtilmelidir. Ayrıca AO nedeniyle dozaj veya uygulama sayısındaki olası değişiklikler, eğer var ise AO'yu gidermek amacıyla kullanılan tedaviler de kayıt altına alınacaktır. Her bir AO'nun sonucu mutlaka rapor edilecektir.

AO Derecelendirmesi; AO şiddeti, beş kademeli ölçek ile değerlendirilecektir:

- Derece 1 - Hafif: Semptomların farkında olunması ancak bunların günlük aktiviteleri etkilememesi durumunda AO "hafif" olarak tanımlanacaktır.
- Derece 2 - Orta: Semptomların rahatsız etmesi ve günlük aktiviteleri belirgin düzeyde olumsuz etkilemesi durumunda AO "orta" olarak tanımlanacaktır.
- Derece 3 - Şiddetli: Gönüllünün günlük aktiviteleri gerçekleştirememesi durumunda AO "şiddetli" olarak tanımlanacaktır.
- Derece 4 - Hayatı tehdit edici: Araştırmacı tarafından gönüllüde ölüm riski oluşturacak derecede olduğu düşünülen AO'lar "hayatı tehdit edici" olarak tanımlanacaktır.
- Derece 5 - Ölüm: Gönüllünün herhangi bir AO nedeniyle ölmesi durumunda tanımlanacaktır.

AO'ların şiddet ve derecelerinin belirlenmesinde öncelikle Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi'nin (FDA'nın) 2007 yılında yayınlamış olduğu, "Koruyucu Aşı Çalışmalarına Katılan Erişkin ve Adolesan Sağlıklı Gönüllüler için Toksikitenin Derecelendirilmesi" kılavuzundan faydalanılacaktır. Bu kılavuzda aşı çalışmalarında görülebilen lokal ve sistemik reaksiyonlar, yaşamsal bulgular ve laboratuvar bulguları için referans aralıkları tanımlanmış ve bu aralıklara göre derecelendirme önerileri verilmiştir. Belgeye aşağıda belirtilen adresten ulaşılabilmektedir: <https://www.fda.gov/media/73679/download>. Bu kılavuzun kapsamadığı olası diğer yan etkilerin derecelendirilmesi için Advers Olaylar için Ortak Terminoloji Kriterleri (Common Terminology Criteria for Adverse Events [CTCAE]) Versiyon 5.0 kullanılacaktır.

İlişkilendirme Sınıflandırması; Üç kademeli ilişkilendirme ölçütü aşağıda belirtilen kriterler baz alınarak kullanılacaktır:



İlişkili: Tedavi ile arasında makul bir zaman ilişkisi olan olay

İlişkili Değil: Tedavi ile arasında makul bir zaman ilişkisi mümkün olmayan olay

Bilinmiyor: Sağlanan bilginin yetersiz veya çelişkili olması nedeniyle ilişkinin değerlendirilemiyor olması veya verinin sağlanamıyor veya doğrulanamıyor olması

Ciddi Advers Olay (CAO); Ciddi advers olay; önemli bir tehlike, kontrendikasyon, yan etki veya önlemleri düşündürülen herhangi bir yaşanan olaydır. CAO, herhangi bir dozda aşağıdaki kriterlerden en az birine karşılık gelen bir olaydır:

- Ölümcül (Hastanın ölümü ile sonuçlanan*; Not: ölüm bir sonuçtur, olay değildir)
- Yaşamı tehdit edici (Not: “yaşamı tehdit edici” terimi hastayı olay sırasında ölüm tehlikesine sokan olayları kastetmektedir, daha ağır olması halinde ölüme sebebiyet verebileceği farz edilen olayları kastetmemektedir.)
- Hastaneye yatışı veya hastanede kalış süresinin uzamasını gerektiren olaylar,
- Kalıcı veya belirgin sakatlık/ yetersizlikle sonlanan olaylar:
- Doğuştan anomali/doğum kusuru
- Tıbbi olarak önemli olan veya yukarıda sıralanan sonuçların biri veya diğerlerini önlemek için müdahale gerektiren olaylar

*Ani ölüm deyimi, standart tanımlamaya göre ölüm nedeni yalnızca kardiyak orijinli ise kullanılmalıdır. Ölüm ve ani ölüm deyimleri birbirinden tamamen farklıdır ve birbirinin yerine kullanılmamalıdır.

İstatistik analiz planı;

Birincil Sonlanım Noktası;

1) İkinci aşılama dozundan 14 gün sonra COVID-19 ile uyumlu olabilecek semptomlardan ateş ve bir diğer semptomu olan gönüllülerde (semptomatik hasta) 24 ya da 48 saat içinde alınan PCR örneğindeki pozitiflik oranı.

- Kişi yıl hesabıyla hesaplanan COVID-19'suz dönem için %95 Güven Aralığı (GA), birincil etkililik hesaplanmıştır. Her bir aşı kolu için aşağıdaki şekilde formüle edilmiştir: $VE = 100 \times (1 - IRR)$ $IRR = \text{Covid-19 hastalık oranı (toplam olarak her grupta Covid-19 pozitif olup hasta olduğu konfirme edilenlerin o grupta aşılama alan gönüllülere oranı)}$

İkincil Sonlanım Noktaları;

(1) Birinci aşılama dozundan 14 gün sonra RT-PCR ile doğrulanmış semptomatik COVID-19'a karşı bir doz TURKOVAC ve bir doz CoronaVac aşılarının koruyuculuk oranları.



(2) İkinci aşılama dozundan 14 gün sonra RT-PCR ile doğrulanmış semptomatik COVID-19'a karşı iki doz TURKOVAC ve CoronaVac aşılarının ikinci dozlarının koruyuculuk oranları.

(3) İkinci aşılama dozundan 14 gün sonra RT-PCR ile doğrulanmış şiddetli COVID-19 hastalığına karşı hastaneye yatış ve ölümü engellemede iki doz TURKOVAC ve iki doz CoronaVac aşılarının koruyuculuk oranları.

(4) Her doz aşılamadan sonra 30 dakikaya kadar görülen advers olayların insidansı

(5) Aşılamanın ilk gününden son doz aşılamadan sonraki birinci yıl takibine kadar istenmeyen yan etki insidansı.

(6) Her aşılama dozundan sonraki 7 gün içindeki istenmeyen yan etki reaksiyon insidansı.

(7) Birinci ve ikinci doz aşılamadan sonraki bir yıla kadar ciddi istenmeyen yan etki insidansı.

(8) TURKOVAC veya CoronaVac aşıları ile aşılanmış tüm gönüllülerde tarama günü (0. gün), birinci dozdan 28 (± 2) gün sonra ve kapatma vizitinde (392. gün), Uzun Dönem Nötralizan Antikor Alt Grubu'ndaki gönüllülerde ise ilave olarak birinci dozdan 42 (± 5), 56 (± 5), 70 (± 5), 126 (± 5), 168 (± 5) ve 224 (± 5) gün sonra SARS-CoV2'ye özgü bağlayıcı antikorun seropozitiflik oranı.

▪ SARS-CoV2 anti-spike protein IgG miktarı için başarı ölçütü 42. gün ve 56. gün geometrik ortalama konsantrasyonunda (GMC'de) 2 kat artış

(9) TURKOVAC veya CoronaVac aşıları ile aşılanmış tüm gönüllülerde tarama günü (0. gün), birinci dozdan 28 (± 2) gün sonra, Uzun Dönem Nötralizan Antikor Alt Grubu'ndaki gönüllülerde ise ilave olarak birinci dozdan 42 (± 5), 56 (± 5), 70 (± 5), 126 (± 5), 168 (± 5) ve 224 (± 5) gün sonra

▪ SARS-CoV2 nötralizan antikor titresini için başarı ölçütü 42. gün ve 56. Gün geometrik ortalama titresinde (GMT'de) 2 kat artış olarak tanımlanmıştır.

(10) TURKOVAC veya CoronaVac aşıları ile aşılanmış gönüllüler arasından Uzun Dönem Nötralizan Antikor Alt Grubu'na dahil edilen gönüllüler arasındaki 50'şer kişide tarama günü (0. gün) ve birinci dozdan 28 (± 2 gün) 42 (± 5), 56 (± 5), 70 (± 5), 126 (± 5) ve 224 (± 5) gün sonra akış sitometrisi ile belirlenen SARS-CoV2 protein peptid havuzuna özgü T hücrelerinin geometrik ortalama yüzdesi, medyan, yüzde 25, yüzde 75, minimum ve maksimum ile tanımlayıcı olarak özetlenecektir.

▪ -T hücre aktivasyonu için başarı ölçütü anamnestic cevabın görülmesi olarak tanımlanmıştır.

(11) TURKOVAC ve CoronaVac aşılarındaki lokal ve sistemik belirti ve semptomlar insidansı, ki-kare koşulu sağlandığında ki-kare testi, ki-kare koşulu sağlanamadığında Fisher Exact Testi ile incelenecektir.

İstatistiksel Metotlar; Tüm analizler yalnızca temizlenmiş ve kilitlemiş veri setlerinde yapılacaktır. Veriler istatistikçiler tarafından analiz edilecektir. Analiz için kullanılacak istatistiksel paketler SPSS ve STATA'dır. Olgu Raporu Formları (ORF'ler), ilgili verilerin elde



edilmesi için geliştirilecek, önceden test edilecek ve final hale getirilecektir. İlgili verilerin elde edilmesi için Olgu Rapor Formları geliştirilecek, önceden test edilecek ve finalize edilecektir. COVID-19 insidansı, risk altındaki popülasyon için kişi-yılların toplam epizot sayısı x 1000 olarak hesaplanacaktır. Bu, per-protokol (PP) analizine göre yapılacaktır. Hastalık gelişimi ve aşı başarısızlığı için risk faktörleri (örneğin yaş, cinsiyet, önceden var olan hastalıklar, meslek süresi ve doğası, yaşam koşulları, komorbidite) tanımlayıcı istatistiklerle özetlenecek ve uygun testler kullanılarak vakalar ve kontroller (hastalığı olmayanlar) karşılaştırılarak belirlenecektir. Verilerin normallliği, görsel (histogram ve olasılık grafikleri) ve analitik (Kolmogorov-Smirnov / Shapiro-Wilk testleri) yöntemler kullanılarak test edilecektir. Tanımlayıcı istatistikler sayısal değişkenler için ortalama, standart sapma, medyan ve minimum-maksimum olarak ifade edilecektir; kategorik değişkenler sayı ve yüzde olarak ifade edilecektir. Sürekli değişkenler gruplar arasında Mann-Whitney U testi ile ve gruplar içinde eşleştirilmiş T testi ile karşılaştırılacak ve sürekli değişkenlerin ilişkileri Pearson korelasyon katsayısı veya Spearman sıra korelasyon testi ile değerlendirilecektir. Ki kare veya Fisher'in kesin testi, gruplar arasındaki oranları karşılaştırmak için kullanılacaktır. Spesifik sonuçlarla ilişkili ortak değişkenler (açıklayıcı değişkenler) hakkındaki kategorik veriler, Ki-Kare tabloları (ör. Kruskal-Wallis ki-kare popülasyonların eşitliği testi) veya tek değişkenli ve çok değişkenli analizde 2 x 2 ve 2 x tabloları kullanarak, %95 güven aralıkları ile olasılık oranları hesaplanarak da analiz edilebilir ve sonuç değişkeni olarak ilgilenilen sonucun ve açıklayıcı değişkenler olarak demografik veriler, gönüllü özgeçmiş, klinik veriler gibi diğer tüm değişkenlerin kullanılmasıyla koşulsuz lojistik regresyon kullanılarak modellenecektir. Risk azaltma yüzdesi ile aşı etkililiği hesaplaması: TURKOVAC ile CoronaVac arasındaki karşılaştırmalar tanımlayıcı istatistiklerle özetlenecek ve uygun testlerle analizler yapılacaktır. 20 doğrulanmış COVID-19 vakasından sonra final analiz planlanacaktır. Yapılan ara analizlerde hazard ratio %95 güven aralıklarına göre bağımsız veri izleme komitesi tarafından değerlendirilecek ve buna göre güven aralıklarının genişliğine göre yeniden ara analiz yapılması istenebilecektir.

Ara Analiz; 100 gönüllünün ikinci doz aşı uygulamasını takiben 15 gün sonra bir ara analiz yapılması

V.VII. Sonuçlar:

Çalışmaya henüz gönüllü alınmamıştır.

V.VII.I. Etkinlik Sonuçları:

Çalışmaya henüz gönüllü alınmamıştır. Değerlendirilecek bir etkinlik sonucu henüz mevcut değildir.

V.VII.II. Güvenlik Sonuçları:

Çalışmaya henüz gönüllü alınmamıştır. Değerlendirilecek bir güvenlik sonucu henüz mevcut değildir.

V.VII.III Genel Sonuç:

Çalışma devam etmektedir, çalışma sonlanınca sonuçlar paylaşılacaktır.



VI-TURKOVAC KLİNİK ARAŞTIRMALARI

PRİMER FAZ III



VI-TURKOVAC KLİNİK ARAŞTIRMASI- PRİMER FAZ III

VI.I Çalışma Başlığı:

“Sağlıklı Gönüllülerde İki Doz İnaktif COVID-19 Aşısına (TURKOVAC) Karşı İki Doz CoronaVac (Sinovac) Aşısının Etkililiğinin, İmmünojenitesinin ve Güvenliliğinin Değerlendirildiği, Randomize, Çok Merkezli, Gözlemci Kör Faz III Klinik Çalışma”

VI.II. Çalışma Kodu:

Protokol Kodu: TSB-VAC-COV-TUR-F3.01V

VI.III. Çalışmanın Yapıldığı Merkezler ve Araştırmacı Bilgileri:

VI.III. I. Koordinatör Merkez:

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi

VI.III.II. Koordinatör Araştırmacı:

Ülke Koordinatör Araştırmacı; Prof. Dr. Serhat Ünal

Koordinatör Araştırmacı; Prof. Dr. Mine Durusu Tanrıöver

VI.III.III. Çalışmanın Yapıldığı Diğer Merkezler ve Sorumlu Araştırmacıları:

Tablo 6.1 TURKOVAC Primer Faz 3 klinik araştırmasının merkezleri ve sorumlu araştırmacıları

KLİNİK ARAŞTIRMA MERKEZLERİ	ARAŞTIRMACILAR
<ul style="list-style-type: none">Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Erişkin Hastanesi, İç Hastalıkları Anabilim Dal, Genel Dahiliye Bilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi Aşı Enstitüsü	<ul style="list-style-type: none">Prof. Dr. Mine Durusu Tanrıöver
<ul style="list-style-type: none">Ankara Şehir Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği	<ul style="list-style-type: none">Prof. Dr. Hatice Rahmet Güner
<ul style="list-style-type: none">İzmir Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği	<ul style="list-style-type: none">Prof. Dr. Şükran Köse
<ul style="list-style-type: none">Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastaneleri, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	<ul style="list-style-type: none">Prof. Dr. Orhan Yıldız
<ul style="list-style-type: none">Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	<ul style="list-style-type: none">Prof. Dr. Sıla Akhan
<ul style="list-style-type: none">Başakşehir Çam ve Sakura Şehir Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği	<ul style="list-style-type: none">Prof. Dr. Özlem Altuntaş Aydın



<ul style="list-style-type: none">• Kayseri Şehir Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	<ul style="list-style-type: none">• Prof. Dr. İlhami Çelik
<ul style="list-style-type: none">• Uludağ Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	<ul style="list-style-type: none">• Prof. Dr. Emin Halis Akalın

VI.IV. Çalışmada Kullanılan Ürünler:

2 doz olarak uygulanacak olan 3 µg/ 0.5 ml inaktif çalışma aşısı olan TURKOVAC. Karşılaştırma ürünü (CoronaVac), 0,5 mL/ dozda 600SU SARS-CoV-2 virüs antijeni içerir. Bu çalışmada CoronaVac aşısının dozu 3 µg/ 0.5 ml 'dir.

VI.V. Çalışma Dizaynı:

Çalışmaya dahil edilecek olan gönüllüler, ya 2 doz olarak uygulanacak olan 3 µg/ 0.5 ml inaktif çalışma aşısı olan TURKOVAC ya da 2 doz olarak uygulanacak olan 3 µg/ 0.5 mL/ CoronaVac aşısı olmak üzere rastgele iki koldan birine atandı.

Çalışmaya dahil edilen katılımcılar, çalışma aşısını (TURKOVAC veya CoronaVac) almak için rastgele 1:1 oranında atandı. İlk 400 gönüllünün dahil edilmesinden sonra bir ara analiz yapıp ve daha sonra örneklem büyüklüğü tekrar hesaplanmıştır. Gönüllüler, IWRS (Etkileşimli Web Tabanlı Yanıt Sistemi) kullanılarak 1:1 oranında (TURKOVAC: CoronaVac) randomize edilmiştir.

VI.V.I. Çalışmanın Amacı:

Birincil Amaç:

RT-PCR ile doğrulanmış semptomatik COVID-19 hastalığına karşı iki doz TURKOVAC ile iki doz CoronaVac aşılarının etkililiğini değerlendirmek.

İkincil Amaçlar;

- RT-PCR ile doğrulanmış semptomatik COVID-19 hastalığına karşı bir doz TURKOVAC ile bir doz CoronaVac aşılarının etkililiğini değerlendirmek.
- TURKOVAC ve CoronaVac aşılarının güvenliliğini değerlendirmek.
- TURKOVAC ve CoronaVac aşılarının immünojenitesini değerlendirmek.
- Birinci dozdan 42, 56, 70, 168 ve 224 gün sonra SARS-CoV2'ye özgü bağlayıcı antikorun seropozitiflik oranını belirlemek.
- TURKOVAC alan gönüllüler ve CoronaVac alan gönüllüler arasında birinci doz günü ve birinci dozdan 42, 56, 70, 168 ve 224 gün sonra nötralizasyon testi ile SARS-CoV2 nötrale edici antikorlarını değerlendirmek.



- Birinci doz günü ve birinci dozdan 42, 70, 168 ve 224 gün sonra SARS-CoV2 protein peptid havuzuna özgü T hücrelerinin (T hücresi aktivasyonunu) değerlendirmek.
- İki doz TURKOVAC aşısının şiddetli COVID-19 vakalarına karşı etkililiğini ve hastaneye yatış ve ölüm oranlarını değerlendirmek.
- **Advers reaksiyonların ve Ciddi advers olayların görülme sıklığını belirlemek.**

VI.V.II. Çalışmanın Süresi:

Araştırma süresi: Toplam Gönüllü temini ile birlikte yaklaşık olarak 23 ay

Etik Komite Onay Tarihi: 18.06.2021

TİTCK Onay Tarihi: 21.06.2021

İlk Gönüllü Alım Tarihi (Araştırmanın başlangıcı); 22.06.2021 tarihinde ilk gönüllünün alınmasıyla başladı.

Son Gönüllü Alım Tarihi; 07.01.2022 son gönüllü

Sonlanım noktası: 1290 gönüllüyle çalışma gönüllü alımına kapanmıştır. Gönüllü takipleri ve çalışma devam etmektedir.

VI.VI. Çalışma Metodolojisi:

Klinik Araştırmanın Sonuçların Değerlendirmesi Planı/Çalışma Metodolojisi

Mevcut çalışma gözlemci kör olarak tasarlanmıştır. Çalışmada araştırma ürününün gönüllüye atanması ve hazırlanmasında çalışma hemşiresi görev almıştır. Çalışma aşılarının her biri, kör olmayan bir hemşire tarafından ve araştırma ürün kitapçığına uygun olarak hazırlanmıştır. Çalışma hemşiresi gönüllüye atanan koldaki ürünü araştırma ekibi tarafından belirlenen standart tipte bir şırıngaya çekerek gönüllü numarası, gönüllü baş harfleri, IWRS kodu ve hazırlanma saati ve tarihini içeren etiketi yapıştırılmıştır. Bu sayede kör uygulama için hazır hale getirilmiş olan araştırma ürünü kör çalışma hemşiresi tarafından gönüllülere uygulanmıştır. Çalışma kapsamında kör olmayan hemşire haricinde, çalışmada yer alan diğer hemşire dahil çalışma ekibi ile gönüllüler kör kalmaktadır.

Çalışmaya 2 aşı kolu için 40.800 gönüllü alınması planlanmış ve çalışmada birincil sonlanım noktasına planlanandan erken ulaşılmaması nedeniyle 1290 gönüllü dahil edildikten sonra gönüllü dahil etme süreci tamamlanmıştır.

CoronaVac veya TURKOVAC aşısı daha önce Sağlık Bakanlığı aşılama programına göre aşı yaptırma kriterini sağlayan ancak aşı hakları verildiğinde kendi isteğiyle aşı olmamayı tercih eden ve bu çalışma kapsamında kullanılacak aşılarından birini olmayı kabul eden gönüllülere 1:1 oranında randomize edilerek uygulanmıştır.

Gönüllü seçim kriterlerine uyan katılımcılara herhangi bir işlem yapılmadan önce çalışma detaylı anlatılmış ve Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu (BGOF)'nu imzalamaları istenmiştir.



BGOF'u imzalayan tüm gönüllülere aşı öncesi SARS-CoV-2 PCR testi yapılarak pozitif çıkanlar analiz dışı bırakılmışlardır. Ayrıca kadın gönüllüler için ilk aşı dozu uygulaması öncesinde gebelik testi yapılarak pozitif çıkanlar çalışma dışı bırakılmışlardır.

Aşılama öncesinde (0. gün) ve aşılandıktan sonra 28. gün ve 56. günde gönüllülerin vital bulguları (vücut ısısı, kan basıncı, kalp hızı, solunum hızı) ölçülmektedir. Tüm gönüllüler aşı sonrası 30 dakika boyunca döküntü, dilde şişme, aşı yapılan kolda ağrı, şişlik, kızarıklık, uyuşma da dahil olmak üzere advers olaylar açısından izlenmişlerdir.

Advers olaylar uygulama sonrası her aşılama sonrasında 6. güne kadar günlük, sonrasında son çalışma vizitine kadar haftalık olarak telefon vizitleri ile rutin takip edilmektedir. Advers olayların şiddeti, başlama zamanı, süresi ve varsa tarihiyle birlikte hastaneye başvuru ya da yatış gereksinimi Veri Toplama Formu'na kaydedilmektedir.

Tüm gönüllülerden 0., 42., 56., 70., 168. ve 224. günlerde immünojenite için kan alınmaktadır. Değerlendirilen birincil sonuçlar, her 2 aşı grubu için kendi içinde değerlendirilmektedir.

Birincil sonlanım noktasına ulaşılması ve yeni gönüllü alımının durdurulması sonrası çalışmada körlük kırılmış ve gönüllülere dahil oldukları aşı kolu SMS ile iletilmiştir. Her 2 aşı kolu için SARS-CoV2 nötralizan antikor, anti-spike protein IgG-S ve T hücre ölçümü 224. günde tekrarlanmaktadır. Gönüllüler yan etki değerlendirilmesi için aşılamadan sonra 12 ay boyunca güvenilirlik takibine devam edilecektir.

VI.VI. I. Etkinlik:

Aşı kollarındaki gönüllülerde birinci dozdan 42, 56, 70, 168 ve 224 gün sonra;

- SARS-CoV2 özgü bağlayıcı antikorun seropozitiflik oranı,
- SARS-CoV2 nötralize edici antikorların geometrik ortalama titresini ve geometrik ortalama kat artışı,

Aşı kollarındaki gönüllülerde birinci doz günü ve birinci dozdan 42, 70, 168 ve 224 gün sonra;

- SARS-CoV2 protein peptid havuzuna özgü T hücrelerinin (T hücresi aktivasyonunu) geometrik ortalama yüzdesi.

VI.VI.II. Güvenlik:

- Tüm gönüllülerde aşılamadan sonraki 7 gün içinde advers reaksiyon insidansı.
- Tüm gönüllülerde birinci ve ikinci doz aşılamadan sonraki bir yıla kadar Ciddi Advers Olayların (CAO) insidansı

İstatistiksel yöntemler;

Tüm analizler yalnızca temizlenmiş, dondurulmuş ve kilitlenmiş veri setlerinde yapılmaktadır. Veriler istatistikçiler tarafından analiz edilmektedir. Analiz için kullanılacak istatistiksel paketler SPSS ve STATA'dır. Olgu Rapor Formları (ORF'ler), ilgili verilerin elde edilmesi için geliştirilmiş, önceden test edilmiş ve final hale getirilmiştir. COVID-19 insidansı, risk altındaki popülasyon için kişi-yılların toplam epizot sayısı x 1000 olarak hesaplanmaktadır. Bu, per-



protokol (PP) analizine göre yapılmaktadır. Hastalık gelişimi ve aşı başarısızlığı için risk faktörleri (örneğin yaş, cinsiyet, önceden var olan hastalıklar, meslek süresi ve doğası, yaşam koşulları, komorbidite) tanımlayıcı istatistiklerle özetlenmekte ve uygun testler kullanılarak vakalar ve kontroller (hastalığı olmayanlar) karşılaştırılarak belirlenmektedir. Verilerin normalliği, görsel (histogram ve olasılık grafikleri) ve analitik (Kolmogorov-Smirnov / Shapiro-Wilk testleri) yöntemler kullanılarak test edilmektedir. Tanımlayıcı istatistikler sayısal değişkenler için ortalama, standart sapma, medyan ve minimum-maksimum olarak ifade edilmekte; kategorik değişkenler sayı ve yüzde olarak ifade edilmektedir. Sürekli değişkenler gruplar arasında Mann-Whitney U testi ile ve gruplar içinde eşleştirilmiş T testi ile karşılaştırılmaktadır ve sürekli değişkenlerin ilişkileri Pearson korelasyon katsayısı veya Spearman sıra korelasyon testi ile değerlendirilmektedir. Ki kare veya Fisher'in kesin testi, gruplar arasındaki oranları karşılaştırmak için kullanılmaktadır. Spesifik sonuçlarla ilişkili ortak değişkenler (açıklayıcı değişkenler) hakkındaki kategorik veriler, Ki-Kare tabloları (ör. Kruskal-Wallis ki-kare popülasyonların eşitliği testi) veya tek değişkenli ve çok değişkenli analizde 2 x 2 ve 2 x tabloları kullanarak, %95 güven aralıkları ile olasılık oranları hesaplanarak ta analiz edilebilir, ve sonuç değişkeni olarak ilgilenilen sonucun ve açıklayıcı değişkenler olarak demografik veriler, gönüllü özgeçmişi, klinik veriler gibi diğer tüm değişkenlerin kullanılmasıyla koşulsuz lojistik regresyon kullanılarak modellenmektedir. Risk azaltma yüzdesi ile aşı etkinliği hesaplaması:

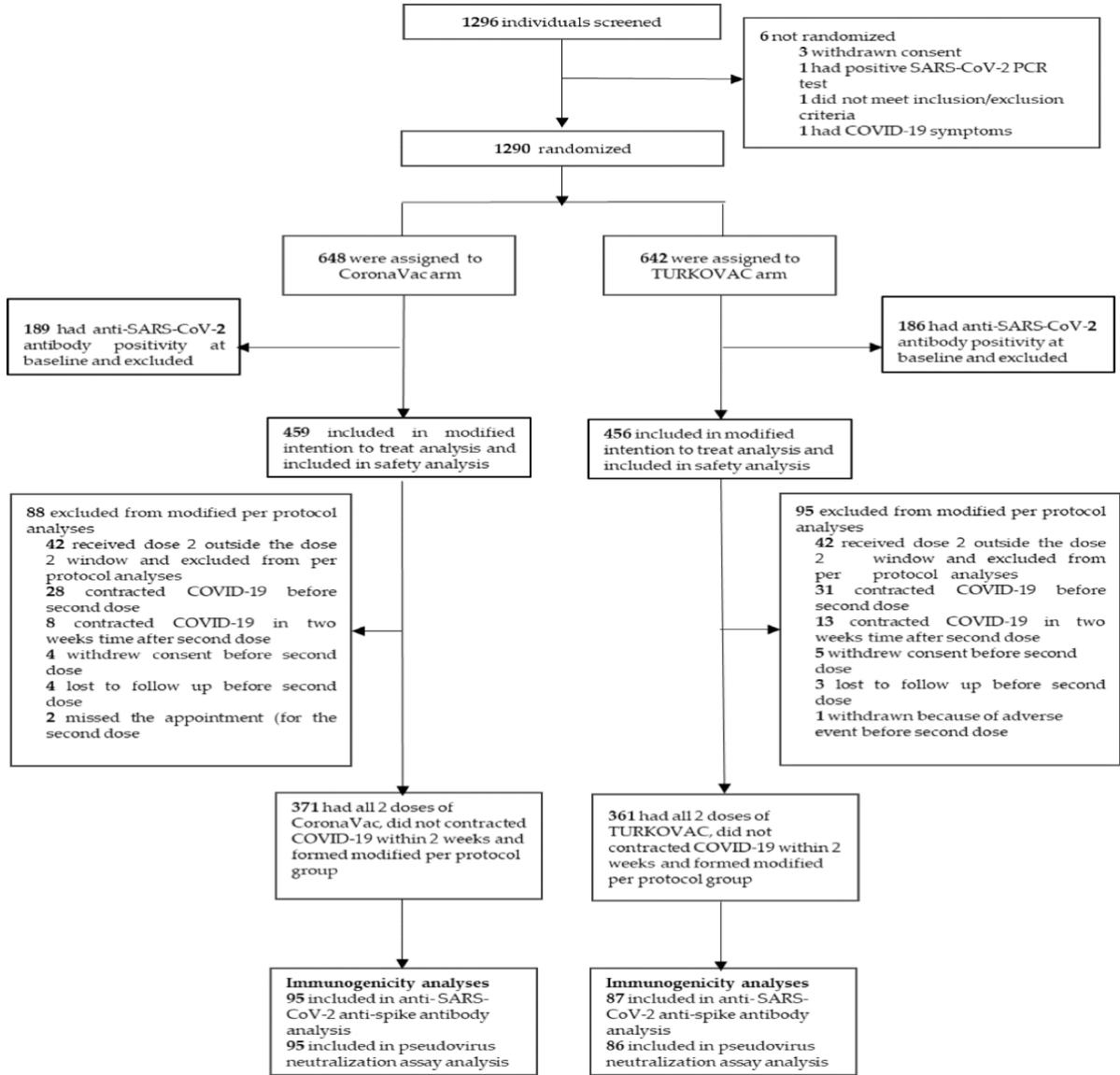
$$\text{Relatif Risk azaltma} = 100x \left(1 - \frac{\text{TURKOVAC İnsidans Oranı}}{\text{CoronaVac İnsidans Oranı}} \right)$$

TURKOVAC ile CoronaVac arasındaki karşılaştırmalar tanımlayıcı istatistiklerle özetlenmekte ve uygun testlerle analizler yapılmaktadır. 20 doğrulanmış COVID-19 vakasından sonra ara analiz ve 40 doğrulanmış COVID-19 vakasından sonra final analiz planlanmaktadır. Yapılan ara analizlerde hazard ratio %95 güven aralıklarına göre bağımsız veri izleme komitesi tarafından değerlendirilmekte ve buna göre güven aralıklarının genişliğine göre yeniden ara analiz yapılması istenmektedir.



VI.VII. Sonuçlar:

Gönüllü Dispozisyonu;



Tablo 6.2 TURKOVAC Primer Faz 3 klinik araştırması gönüllü dispozisyonu



VI.VII. I. Etkinlik Sonuçları

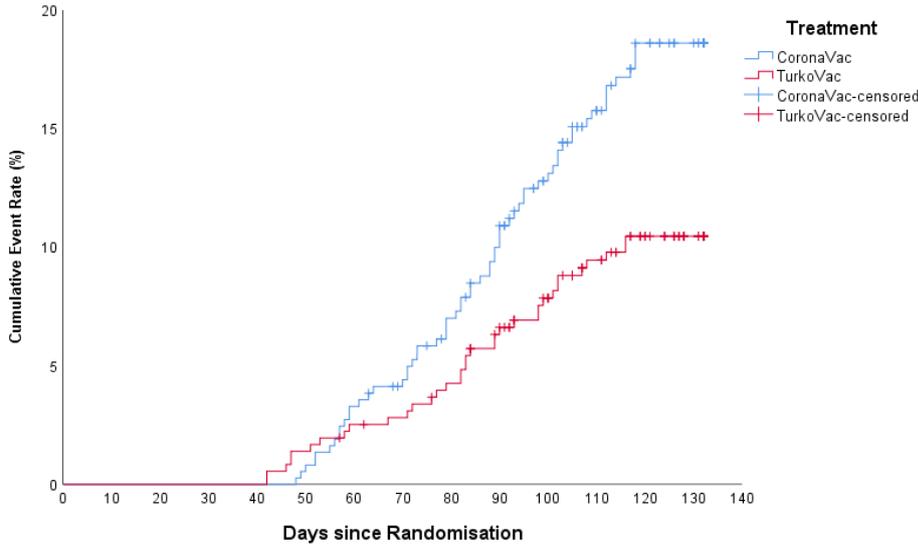
İmmunojenite

Tablo 6.3 TURKOVAC Primer Faz 3 klinik araştırması takip süresi

Takip Süresi			
Takip Süresi	CoronaVac	TURKOVAC	Toplam
Randomizasyondan sonra takip süresi-Ortanca gün*	132 (87-133)	132 (91-133)	132 (89-133)
Randomizasyondan sonra takip süresi-kishi/yil**	134	134	268
2.dozdan sonra 14 gün ve üzeri takip süresi-Ortanca gün*	90 (76-90)	90 (90-90)	90 (86-90)
2.dozdan sonra 14 gün ve üzeri takip süresi-kishi/yil***	80	81	161

*Ortanca (Q1-Q3)
**Randomizasyon tarihinden 23.02.2022 tarihine kadar her bir gönüllünün maruziyet süresi gün olarak hesaplanmış, izlem süresi maksimum 137 gün alınmıştır ve tüm gönüllülerin toplam süresi yıla çevrilerek aşı kolu bazında verilmiştir.
***2.doz aşılama tarihinden sonraki 14. gün başlangıç kabul edilerek 23.02.2022 tarihine kadar her bir gönüllünün maruziyet süresi gün olarak hesaplanmış, 2. dozdan 14 gün sonra izlem süresi maksimum 90 gün kabul edilmiş ve tüm gönüllülerin toplam süresi yıla çevrilerek aşı kolu bazında verilmiştir.

➤ İkinci Doz Aşidan 14 Gün ve Üzeri COVID-19 Vaka İnsidansı;



Şekil 6.1 TURKOVAC Primer Faz 3 İkinci Doz Aşidan 14 Gün ve Üzeri COVID-19 Vaka İnsidansı

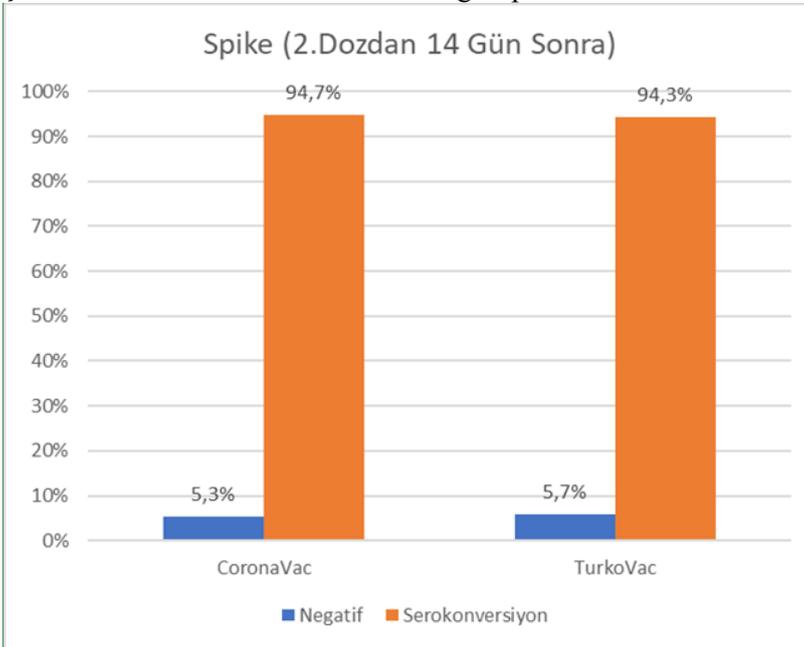
Aşı etkinliği ikinci aşı dozu uygulamasından 14 gün sonra başladığı için aşı etkinliğini değerlendirmeye yönelik olarak 2. aşı dozundan 14 gün sonra gelişen semptomatik ve COVID-19 PCR sonucu pozitif vakaların gruplar arasındaki (TURKOVAC ve CoronaVac aşıları ile primer aşı uygulaması gerçekleştirilmiş olan) farklılığı gösterilmektedir. Grafikte görüldüğü üzere, TURKOVAC aşı kolunda kümülatif vaka sayısı 35 iken Coronavac aşı kolunda 61 olarak gözlenmiştir.



➤ **IgG SPIKE ORANI;**

- SARS-CoV-2 IgG tayini için 0. Gün'de (ilk doz aşı uygulaması öncesi – aşı ile aynı gün veya bir gün öncesi) PCR sonucu ve SARS-CoV-2 antikor serolojileri negatif olan 182 gönüllünün ikinci doz aşı uygulaması sonrası en erken 14 gün sonra alınan numunelerde serokonversiyon değerlendirmesi aşağıda sunulmuştur.
- Bir kemilüminesan mikropartikül immünolojik tetkiki (CMIA) olan SARS-CoV-2 IgG II Quant testi (Abbott Ireland Diagnostics Ltd, İrlanda), ARCHITECT i System üzerinde insan serumu ve plazmasında SARS-CoV-2'ye karşı IgG antikorlarının kalitatif ve kantitatif olarak saptanması için kullanılmıştır. Bu test, kalibrasyonu ve sonuçları üretmek için 4 Parametrelili Lojistik Eğrisine uygun veri azaltma yöntemini (4PLC, Y-ağırlıklı) kullanır.
- Sonuçların yorumlanması için cut-off değeri 50,0 AU/mL'dir.

Şekil 6.2 TURKOVAC Primer Faz 3 IgG spike oranı



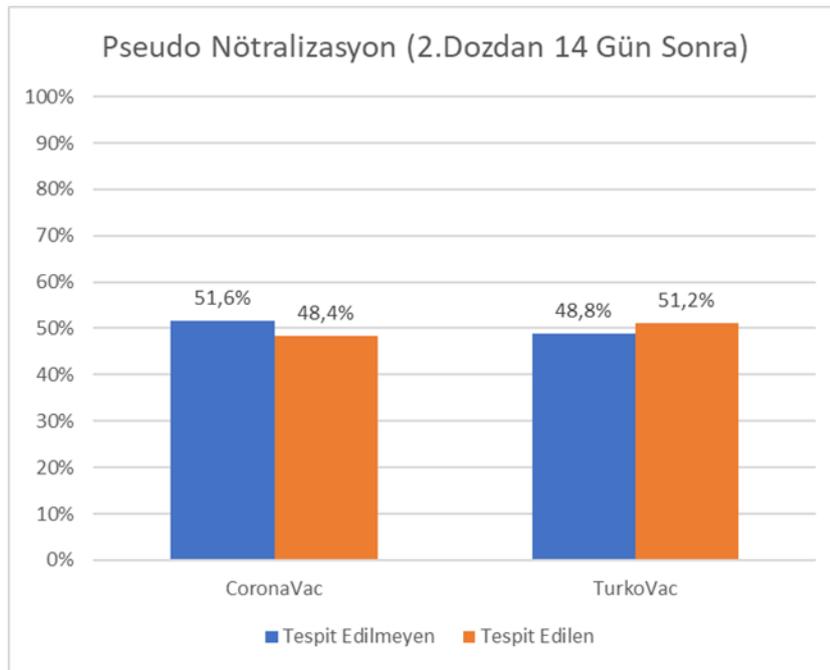
- İmmünojenisite çalışmaları için takip numuneleri, aşının ikinci dozundan sonra ortalama 33,5 (Q1-Q3: 21-55) gün içinde toplanmıştır.
- Anti-SARS-CoV-2 spike antikorları için serokonversiyon oranları, immünojenisite çalışmaları için örnek alınabilen CoronaVac (n=95) gönüllüleri arasında %94,7 ve TURKOVAC (n=87) gönüllüleri arasında da %94,3 olarak bulunmuştur.
- CoronaVac kolunda geometrik ortalama 347,70 (Güven Aralığı %95: 269,23-449,05), TurkoVac kolunda 317,18 (Güven Aralığı %95: 240,37-418,52) olmak üzere toplamda 332,76 (Güven Aralığı %95: 275,81-401,48)'dir.



➤ **PSEUDONÖTRALİZASYON ORANI;**

- Nötralize edici aktiviteyi kontrol etmek amacıyla psödovirüs nötralizasyon testi için 0. Gün'de (ilk doz aşı uygulaması öncesi – aşı ile aynı gün veya bir gün öncesi) PCR sonucu ve SARS-CoV-2 antikor serolojileri negatif olan 181 gönüllünün ikinci doz aşı uygulaması sonrası en erken 14 gün sonra alınan numunelerde pseudonötralizasyon değerlendirmesi aşağıda sunulmuştur.
- Bu test için DIA.PRO ACE2-RBD nötralizasyon test kiti (Diagnostic Bioprobes Srl, İtalya) kullanılmıştır. Bu kitin duyarlılığının, altın standart *in-vivo* nötralizasyon yöntemine göre %90'dan daha iyi olduğu bildirilmektedir. Ayrıca, bu testin özgüllüğünün >%98 olduğu bildirilmiştir.
- Çalışmada DSÖ Uluslararası Anti-SARS-CoV-2 Immunoglobulin Referans Paneli (NIBS Code 20/268) kullanılmıştır.
- Sonuçların yorumlanması için cut-off değeri 1/8 olarak alınmıştır. 1/8 ve üzeri değerler nötralize edici kabul edilmiştir.

Şekil 6.3 TURKOVAC Primer Faz 3 Pseudo nötralizasyon



- Psödovirüs nötralizasyon testi, CoronaVac (n=95) gönüllüleri arasında %48,4 ve TURKOVAC (n=86) gönüllüleri arasında %51,2 pozitiflik oranları göstermektedir.
- CoronaVac kolunda geometrik ortalama 9,47 (Güven Aralığı %95: 7,32-12,25), TurkoVac kolunda 9,80 (Güven Aralığı %95: 7,72-12,44) olmak üzere toplamda 9,61 (Güven Aralığı %95: 8,05-11,48)'dir.

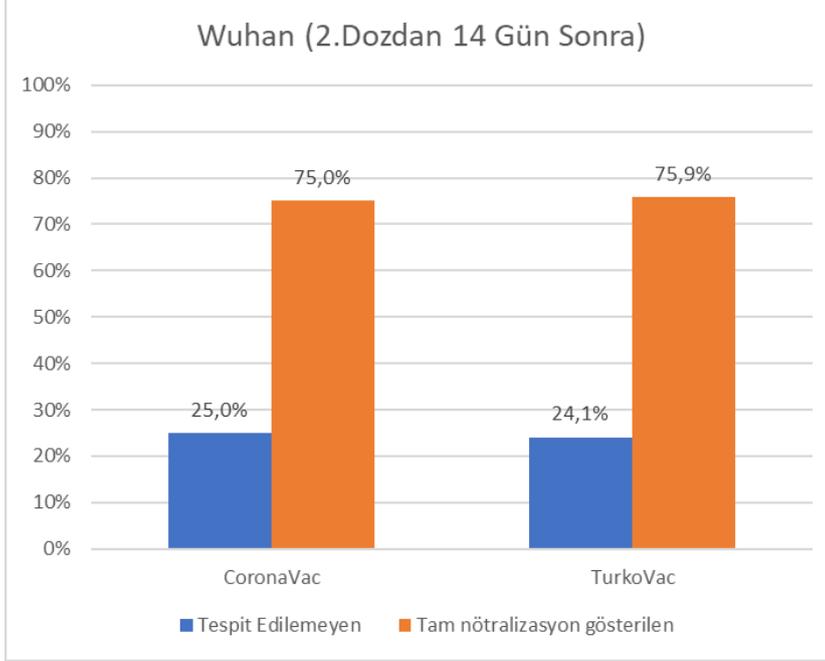
➤ **MİKRO NÖTRALİZASYON -WUHAN ORANI;**

- Mikro nötralizasyon testi için 0. Gün'de (ilk doz aşı uygulaması öncesi – aşı ile aynı gün veya bir gün öncesi) PCR sonucu ve SARS-CoV-2 antikor serolojileri negatif olan 175 gönüllünün ikinci doz aşı uygulaması sonrası en erken 14 gün sonra alınan numunelerde virüs nötralizasyon değerlendirmesi aşağıda sunulmuştur.
- SARS-CoV2-Nötralize Edici Antikor tespiti için Virüs Nötralizasyon Testi tekniği uygulanmıştır. Kan serumu örnekleri 56°C'de 30 dakika inaktive edildikten sonra aynı



hacimde 100DKID50 SARS-CoV2 (yaklaşık 1:100 seyreltilmiş virüs) ile karıştırılarak nötralizasyon için 37°C'de bir saat bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda Vero E6 hücreleri bu karışımla aşılanmış ve 37°C'de 96 saat inkübe edilmiştir. Test, hücre kültürü mikroskobunda virüs ve hücre kontrolü için kontrol edilmiştir. Virüs kontrol bölümünde SARS-CoV2'ye özgü cpe'nin %100'ü gözlemlendiğinde test değerlendirilmiştir

Şekil 6.4 TURKOVAC Primer Faz 3 mikro nötralizasyon- Wuhan oranı



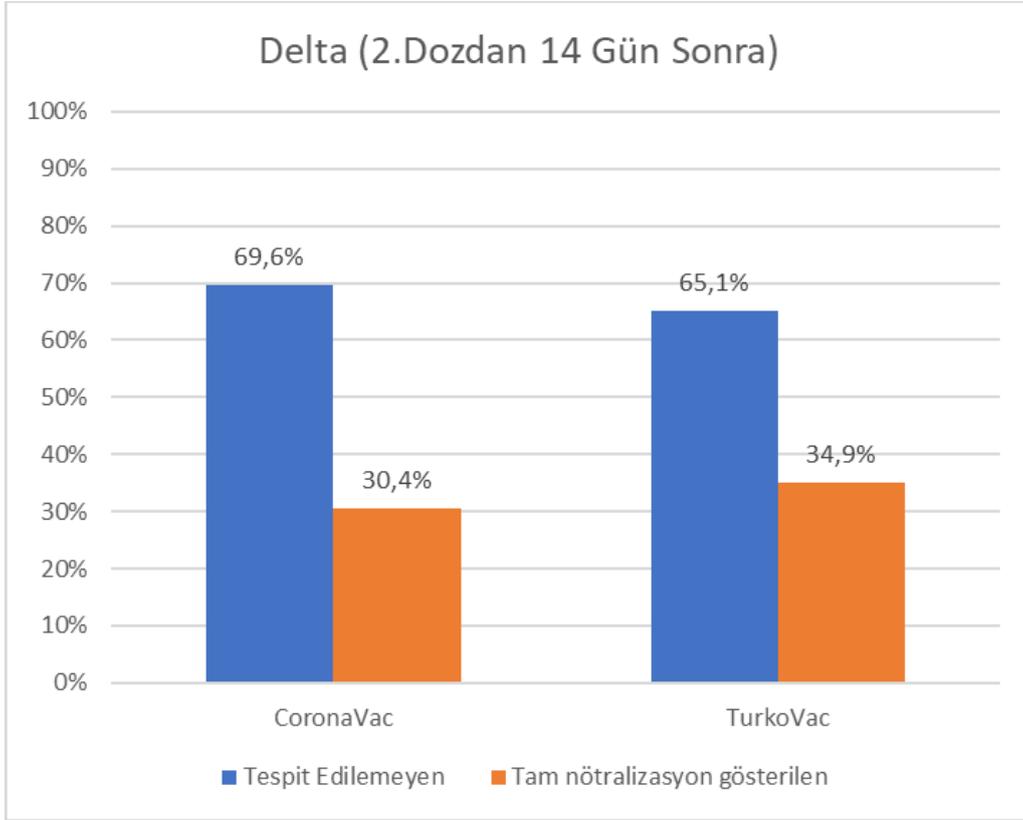
- Mikro nötralizasyon-Wuhan testi, CoronaVac (n=92) gönüllüleri arasında %75,0 ve TURKOVAC (n=83) gönüllüleri arasında %75,9 pozitiflik oranları göstermektedir.
- CoronaVac kolunda geometrik ortalama 25,14 (Güven Aralığı %95: 19,42-32,56), TurkoVac kolunda 21,30 (Güven Aralığı %95: 16,51-27,48) olmak üzere toplamda 23,23 (Güven Aralığı %95: 19,37-27,85)'dir.

➤ MİKRO NÖTRALİZASYON- DELTA ORANI;

- Yöntemi Wuhan oranındaki yöntem gibidir.
- Mikro nötralizasyon testi için 0. Gün'de (ilk doz aşı uygulaması öncesi – aşı ile aynı gün veya bir gün öncesi) PCR sonucu ve SARS-CoV-2 antikor serolojileri negatif olan 175 gönüllünün ikinci doz aşı uygulaması sonrası en erken 14 gün sonra alınan numunelerde virüs nötralizasyon değerlendirmesi aşağıda sunulmuştur.
- SARS-CoV2-Nötralizasyon Edici Antikor tespiti için Virüs Nötralizasyon Testi tekniği uygulanmıştır. Kan serumu örnekleri 56°C'de 30 dakika inaktive edildikten sonra aynı hacimde 100DAKIKAD50 SARS-CoV2 (yaklaşık 1:100 seyreltilmiş virüs) ile karıştırılarak nötralizasyon için 37°C'de bir saat bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda Vero E6 hücreleri bu karışımla aşılanmış ve 37°C'de 96 saat inkübe edilmiştir. Test, hücre kültürü mikroskobunda virüs ve hücre kontrolü için kontrol edilmiştir. Virüs kontrol bölümünde SARS-CoV2'ye özgü cpe'nin %100'ü gözlemlendiğinde test değerlendirilmiştir.



Şekil 6.5 TURKOVAC Primer Faz 3 mikro nötralizasyon- Delta oranı



- Mikro nötralizasyon-Delta testi, CoronaVac (n=92) gönüllüleri arasında %30,4 ve TURKOVAC (n=83) gönüllüleri arasında %34,9 pozitiflik oranları göstermektedir. CoronaVac kolunda geometrik ortalama 16 (Güven Aralığı %95: 11,28-22,69), TurkoVac kolunda 13,86 (Güven Aralığı %95: 10,15-18,93) olmak üzere toplamda 14,87 (Güven Aralığı %95: 11,79-18,76)'dır.

Tablo 6.4 Aşı sonrası COVID'19 geçiren hastaları IgG ve nötralizasyon antikor düzeyleri

Aşı sonrası COVID-19 geçiren hastaların IgG ve nötralizasyon antikor düzeylerine ilişkin veriler (mevcutsa)						
	IgG Spikes (2.Doza+14)			Pseudo (2.Doza+14)		
	CoronaVac	TURKOVAC	Toplam	CoronaVac	TURKOVAC	Toplam
Negatif	2 (5,6)	1 (4,5)	3 (5,2)	20 (55,6)	11 (50)	31 (53,4)
Pozitif	34 (94,4)	21 (95,5)	55 (94,8)	16 (44,4)	11 (50)	27 (46,6)
Toplam	36 (100)	22 (100)	58 (100)	36 (100)	22 (100)	58 (100)

Semptomatik Hastalığı Engelleme						
Tedavi Kolu	COVID-19 Vaka Sayısı*	Toplam Gönüllü Sayısı**	COVID-19 Vaka Oranı (%)	Kişi-Gün Maruziyet***	İnsidans Hızı (/1000 kişi-yıl)	İnsidans Hızı (/100 kişi-gün)
CoronaVac	61	371	%16,44	29.213	762,68	0,209
TURKOVAC	35	361	%9,70	29.506	433,26	0,119
Toplam	96	732	%13,11	58719	597,15	0,163

*2. doz aşılanma tarihinden 14. gün ve sonrası itibarıyla 23.02.2022 tarihine kadar izlem süresi maksimum 90 gün alınan, semptomatik ve PCR pozitif COVID-19 vakalarına göre
**2. doz aşılanma tarihinden sonraki 14. gün ve sonrası itibarıyla 23.02.2022 tarihine kadar izlem süresi maksimum 90 gün kabul edilen gönüllü sayısı
***2. doz aşılanma tarihinden sonraki 14. gün başlangıç kabul edilerek 23.02.2022 tarihine kadar her bir gönüllünün maruziyet süresi gün olarak hesaplanmış, 2. dozdan 14 gün sonra izlem süresi maksimum 90 gün kabul edilmiş ve tüm gönüllülerin toplam süresi yıla çevrilerek aşı kolu bazında verilmiştir.



Tablo 6.5 TURKOVAC Primer Faz 3 klinik araştırması risk verileri

Risk Verileri	
Göreceli risk azalması ('Relative Risk Reduction')	%41,03 GA95: 12,95-60,06
Mutlak risk azalması ('Absolute Risk Reduction')	%6,75 GA95: 1,86-11,63
Odds oranı ('Odds Ratio')	1,83 GA95: 1,17-2,85

Tablo 6.6 Dünya Sağlık Örgütü COVID'19 klinik durum skalasına göre COVID'19 dağılımı

DSÖ COVID-19 Klinik Durum Skalasına Göre COVID-19 Dağılımı*			
	CoronaVar	TURKOVAC	Toplam*
Semptomatik-Bağımsız	96 (20.9)	74 (16.2)	170 (18.6)
Semptomatik-Yardıma ihtiyacı var	0 (0)	1 (0.2)	1 (0.1)
Hastaneye yatış (Eğer sadece izolasyon içinse ayaktan hasta olarak kaydedin)-Oksijen desteği gerekmiyor	0 (0)	3 (0.7)	3 (0.3)
Hastaneye yatış-maske veya nazal kanülle oksijen takviyesi	1 (0.2)	0 (0)	1 (0.1)
Toplam	97 (21.1)	78 (17.1)	175 (19.1)

*Çalışmaya dahil edildikten sonra 23.02.2022 tarihine kadar izlem süresi maksimum 137 gün alınan, semptomatik ve PCR pozitif COVID-19 vakaları üzerinden yapılmıştır.

DSÖ COVID-19 Klinik Durum Skalasına göre çalışmaya katılan gönüllülerin COVID-19 geliştirme durumlarında aşıların semptomatik, ciddi hastalığı önlemede genel olarak etkili olduğu; TURKOVAC kolunda COVID-19'a bağlı hastane yatışı gerektiren vaka bulunmadığı görülmektedir. Bununla birlikte, COVID-19 geliştirenlerin genel olarak hafif semptomlu ve sağlık kuruluşuna başvuru gerektirmeyecek düzeyde olduğu her iki aşı kolunda da görülmektedir.

III.VII.II. Güvenlik Sonuçları:

Tablo 6.7 Bildirilen Advers Olayların Gruplamasının Aşı Koluna Göre Dağılımı

	CoronaVac kolu (n=459)		TURKOVAC kolu (n=456)		Toplam (n=915)		p
	Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü	
	n	n (%)	n	n (%)	n	n (%)	
Toplam AO	822	239 (52,1)	962	281 (61,6)	1.784	520 (56,8)	0,004



Beklenen AO	761	234 (51)	890	275 (60,3)	1.651	509 (55,6)	0,005
Beklenmeyen AO	61	54 (11,8)	72	57 (12,5)	133	111 (12,1)	0,733
Sistemik AO	701	199 (43,4)	686	188 (41,2)	1.387	387 (42,3)	0,515
Lokal AO	121	100 (21,8)	276	206 (45,2)	397	306 (33,4)	<0,001
Evre 1 AO	692	217 (47,3)	863	268 (58,8)	1.555	485 (53)	<0,001
Evre 2 AO	129	55 (12)	97	40 (8,8)	226	95 (10,4)	0,111
Evre 3 AO	1	1 (0,2)	1	1 (0,2)	2	2 (0,2)	-
Evre 4 AO	-	-	-	-	-	-	-

Tablo 6.8 Bildirilen Advers Olayların Aşı Koluna Göre Dağılımı

	CoronaVac kolu (n=459)		TURKOVAC kolu (n=456)		Toplam (n=915)		p
	Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü	
	n	n (%)	n	n (%)	n	n (%)	
Toplam AO	822	239 (52,1)	962	281 (61,6)	1.784	520 (56,8)	0,004
Lokal AO							
Enjeksiyon Bölgesinde Ağrı	96	87 (19,0)	224	188 (41,2)	320	275 (30,1)	<0,001
Enjeksiyon Bölgesinde Sertleşme veya Şişme	10	8 (1,7)	19	17 (3,7)	29	25 (2,7)	0,066
Enjeksiyon Bölgesindeki Kol Ağrısı	7	7 (1,5)	11	11 (2,4)	18	18 (2,0)	0,334
Enjeksiyon Bölgesinde Sertlik	3	3 (0,7)	7	6 (1,3)	10	9 (1,0)	0,340
Enjeksiyon Bölgesinde Kızarıklık	4	4 (0,9)	5	5 (1,1)	9	9 (1,0)	0,752
Sistemik AO							
Baş Ağrısı	107	75 (16,3)	107	88 (19,3)	214	163 (17,8)	0,242
Yorgunluk	92	74 (16,1)	106	83 (18,2)	198	157 (17,2)	0,404
Boğaz Ağrısı	74	62 (13,5)	66	58 (12,7)	140	120 (13,1)	0,724



Öksürük	64	55 (12)	58	46 (10,1)	122	101 (11)	0,360
Kas Ağrısı	51	47 (10,2)	57	49 (10,7)	108	96 (10,5)	0,803
İshal	41	38 (8,3)	36	32 (7)	77	70 (7,7)	0,473
Burun Tıkanıklığı	35	32 (7,0)	39	33 (7,2)	74	65 (7,1)	0,876
Burun Akıntısı	34	32 (7,0)	35	32 (7)	69	64 (7,0)	0,978
Üşüme	32	31 (6,8)	34	28 (6,1)	66	59 (6,4)	0,706
Ateş	28	26 (5,7)	30	28 (6,1)	58	54 (5,9)	0,760
Göğüs Ağrısı	34	27 (5,9)	21	16 (3,5)	55	43 (4,7)	0,090

Tablo 6.9 Güncel Ciddi Advers Olay Tablosu

Gönüllü No	Tedavi	Merkez	Ciddi Advers Olay Tanımı	Hastaneye Yatış Tarihi	Başlangıç Tarihi	Bitiş Tarihi	1.Doza Aşım Tarihi	2.Doza Aşım Tarihi	Sonuç	Şiddet
2020070808	TURKOVAC	401-Hacettepe	Sezaryen Doğum Nedeniyle Hastaneye Yatış	22.03.2022	22.03.2022	23.03.2022	2.07.2021	-	Sekel Kalmadan Çözüldü	Hafif
2020070818	CoronaVac	401-Hacettepe	Böbrek Taşı Nedeniyle Hastaneye Yatış	4.08.2021	4.08.2021	-	5.07.2021	6.08.2021	Devam Ediyor	Orta
2020070889	TURKOVAC	402-Ankara Sehir	Ateşli COVID-19 Nedeniyle Hastaneye Yatış	12.08.2021	12.08.2021	18.08.2021	8.07.2021	5.08.2021	Sekel Kalmadan Çözüldü	Orta
2020070925	TURKOVAC	401-Hacettepe	Rahim Alınması Operasyonu	18.03.2022	18.03.2022	20.03.2022	12.07.2021	9.08.2021	Sekel Kalmadan Çözüldü	Hafif
2020071423	TURKOVAC	402-Ankara Sehir	Ateşli COVID-19 Nedeniyle Hastaneye Yatış	2.10.2021	2.10.2021	8.10.2021	26.08.2021	23.09.2021	Sekel Kalmadan Çözüldü	Orta
2020071630	CoronaVac	425-Kayseri	COVID-19 Nedeniyle Hastaneye Yatış	19.12.2021	19.12.2021	25.12.2021	6.09.2021	4.10.2021	Sekel Kalmadan Çözüldü	Orta
2020071714	TURKOVAC	402-Ankara Sehir	COVID-19 Nedeniyle Hastaneye Yatış	19.09.2021	19.09.2021	1.10.2021	8.09.2021	18.01.2022	Sekel Kalmadan Çözüldü	Orta
2020072050	TURKOVAC	424-Cam ve Sakura	Sezaryen Doğum Nedeniyle Hastaneye Yatış	4.07.2022	4.07.2022	7.07.2022	24.09.2021	23.10.2021	Sekel Kalmadan Çözüldü	Hafif



Gönüllü No	Tedavi	Merkez	Ciddi Advers Olay Tanımı	Hastaneye Yatış Tarihi	Başlangıç Tarihi	Bitiş Tarihi	1. Doz Aşı Tarihi	2. Doz Aşı Tarihi	Sonuç	Şiddeti
2020072168	CoronaVac	424-Cam ve Sakura	Sezaryen Doğum Nedeniyle Hastaneye Yatış	7.08.2022	7.08.2022	9.08.2022	4.10.2021	3.11.2021	Sekel Kalmadın Çözüldü	Hafif
2020072201	TURKOVAC	424-Cam ve Sakura	Beyin Kanseri	3.07.2022	3.07.2022	7.07.2022	8.10.2021	5.11.2021	Ölüm	Ciddi
2020072358	CoronaVac	426-Bursa	Nazal Septum Deviasyonu	19.02.2022	19.02.2022	22.02.2022	8.11.2021	6.12.2021	Sekel Kalmadın Çözüldü	Hafif
2020072458	CoronaVac	426-Bursa	Şeker Hastalığı	24.01.2022	24.01.2022	28.01.2022	23.11.2021	30.12.2021	Sekel Kaldı	Orta
2020072260	TURKOVAC	401-Hacettepe	Mide Bulantısı ve Kusma Nedeniyle Hastaneye Yatış	2.09.2022	2.09.2022	4.09.2022	18.10.2021	15.11.2021	Sekel Kalmadın Çözüldü	Hafif

Ciddi istenmeyen etkilerin aşısı ile direkt olarak ilgili olmadığı araştırmacılar tarafından değerlendirilmiştir.

Tablo 6.10A TURKOVAC Primer Faz III Çalışması Advers Olay Sayıları

		CoronaVac Kolu (n=459)		TURKOVAC Kolu (n=456)		Toplam (n=915)	
		Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü
		n	n (%)	n	n (%)	n	n (%)
1.doz sonrası	İlk 30 Dakika	4	4 (0,9)	4	4 (0,9)	8	8 (0,9)
	İlk 24 Saat	104	68 (14,8)	149	120 (26,3)	253	188 (20,5)
	İlk 3 Gün	204	119 (25,9)	299	186 (40,8)	503	305 (33,3)
	İlk 7 Gün	263	142 (30,9)	365	196 (43,0)	628	338 (36,9)
	İlk 14 Gün	309	153 (33,3)	436	213 (46,7)	745	366 (40,0)
	İlk 1 Ay	419	171 (37,3)	544	222 (48,7)	963	393 (43,0)
	İlk 3 Ay	426	172 (37,5)	547	222 (48,7)	973	394 (43,1)
	İlk 6 Ay	429	172 (37,5)	548	222 (48,7)	977	394 (43,1)
	İlk 1 Yıl	429	172 (37,5)	549	223 (48,9)	978	395 (43,2)
	> 1 Yıl	429	172 (37,5)	549	223 (48,9)	978	395 (43,2)
2.doz sonrası	İlk 30 Dakika	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)
	İlk 24 Saat	54	41 (8,9)	95	73 (16,0)	149	114 (12,5)



	CoronaVac Kolu (n=459)		TURKOVAC Kolu (n=456)		Toplam (n=915)	
	Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü
	n	n (%)	n	n (%)	n	n (%)
İlk 3 Gün	109	66 (14,4)	153	98 (21,5)	262	164 (17,9)
İlk 7 Gün	140	76 (16,6)	189	108 (23,7)	329	184 (20,1)
İlk 14 Gün	163	80 (17,4)	213	115 (25,2)	376	195 (21,3)
İlk 1 Ay	198	92 (20,0)	262	126 (27,6)	460	218 (23,8)
İlk 3 Ay	304	115 (25,1)	324	135 (29,6)	628	250 (27,3)
İlk 6 Ay	353	124 (27,0)	378	144 (31,6)	731	268 (29,3)
İlk 1 Yıl	390	133 (29,0)	412	151 (33,1)	802	284 (31,0)
>1 Yıl	393	133 (29,0)	413	151 (33,1)	806	284 (31,0)

*CoronaVac kolundaki gönüllü sayısı 459, TURKOVAC kolundaki gönüllü sayısı 456, Toplam gönüllü sayısı 915.

**Tabloda bildirilen advers olay sayıları kümülatif olarak belirtilmiştir.



TABLO 6.10B TURKOVAC PRİMER FAZ III ÇALIŞMASI ADVERS OIAY SAYILARI

		CoronaVac Kolu (n=459)		TURKOVAC Kolu (n=456)		Toplam (n=915)		p
		Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü	
		n	n (%)	n	n (%)	n	n (%)	
1.doz sonrası	İlk 30 Dakika	4	4 (0,9)	4	4 (0,9)	8	8 (0,9)	1,000
	İlk 30 Dakika-İlk 24 Saat	100	66 (14,4)	145	117 (25,7)	245	183 (20)	<0,001
	İlk 24 Saat-İlk 3 Gün	100	58 (12,6)	150	95 (20,8)	250	153 (16,7)	0,001
	İlk 3 Gün-İlk 7 Gün	59	33 (7,2)	66	32 (7,0)	125	65 (7,1)	0,919
	İlk 7 Gün-İlk 14 Gün	46	21 (4,6)	71	37 (8,1)	117	58 (6,3)	0,028
	İlk 14 Gün-İlk 1 Ay	110	42 (9,2)	108	37 (8,1)	218	79 (8,6)	0,577
	İlk 1 Ay-İlk 3 Ay	7	3 (0,7)	3	2 (0,4)	10	5 (0,5)	1,000
	İlk 3 Ay-İlk 6 Ay	3	2 (0,4)	1	1 (0,2)	4	3 (0,3)	-
	İlk 6 Ay-İlk 1 Yıl	0	0 (0,0)	1	1 (0,2)	1	1 (0,1)	-
	İlk 1 Yıl->1 Yıl	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	-
2.doz sonrası	İlk 30 Dakika	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	-
	İlk 30 Dakika-İlk 24 Saat	54	41 (8,9)	95	73 (16)	149	114 (12,5)	0,001
	İlk 24 Saat-3 Gün	55	29 (6,3)	58	35 (7,7)	113	64 (7,0)	0,421



	CoronaVac Kolu (n=459)		TURKOVAC Kolu (n=456)		Toplam (n=915)		p
	Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü	
	n	n (%)	n	n (%)	n	n (%)	
3 Gün-7 Gün	31	16 (3,5)	36	18 (3,9)	67	34 (3,7)	0,712
7 Gün-İlk 14 Gün	23	13 (2,8)	24	12 (2,6)	47	25 (2,7)	0,852
İlk 14 Gün-İlk 1 Ay	35	17 (3,7)	49	21 (4,6)	84	38 (4,2)	0,494
İlk 1 Ay-İlk 3 Ay	106	37 (8,1)	62	28 (6,1)	168	65 (7,1)	0,258
İlk 3 Ay-İlk 6 Ay	49	20 (4,4)	54	19 (4,2)	103	39 (4,3)	0,887
İlk 6 Ay-İlk 1 Yıl	37	18 (3,9)	34	14 (3,1)	71	32 (3,5)	0,483
İlk 1 Yıl->1 Yıl	3	2 (0,4)	1	1 (0,2)	4	3 (0,3)	-

TABLO 6.11A. TURKOVAC PRİMER FAZ III ÇALIŞMASI ADVERS OLAY SAYILARI

		CoronaVac Kolu (n=459)				TURKOVAC Kolu (n=456)				Toplam (n=915)	
		Lokal		Sistemik		Lokal		Sistemik		Toplam	
		Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü
		n	n (%)	n	n (%)	n	n (%)	n	n (%)	n	n (%)
1.doz sonrası	İlk 30 Dakika	3	3 (0,7)	1	1 (0,2)	4	4 (0,9)	0	0 (0)	8	8 (0,9)
	İlk 24 Saat	42	40 (8,7)	62	37 (8,1)	114	106 (23,2)	35	27 (5,9)	253	188 (20,5)



	CoronaVac Kolu (n=459)				TURKOVAC Kolu (n=456)				Toplam (n=915)	
	Lokal		Sistemik		Lokal		Sistemik		Toplam	
	Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü
	n	n (%)	n	n (%)	n	n (%)	n	n (%)	n	n (%)
İlk 3 Gün	58	54 (11,8)	146	80 (17,4)	168	155 (34,0)	131	77 (16,9)	503	305 (33,3)
İlk 7 Gün	66	60 (13,1)	197	101 (22)	172	158 (34,6)	193	94 (20,6)	628	338 (36,9)
İlk 14 Gün	66	60 (13,1)	243	112 (24,4)	174	159 (34,9)	262	114 (25)	745	366 (40,0)
İlk 1 Ay	69	61 (13,3)	350	135 (29,4)	177	160 (35,1)	367	132 (28,9)	963	393 (43,0)
İlk 3 Ay	69	61 (13,3)	357	136 (29,6)	177	160 (35,1)	370	132 (28,9)	973	394 (43,1)
İlk 6 Ay	69	61 (13,3)	360	136 (29,6)	177	160 (35,1)	371	132 (28,9)	977	394 (43,1)
İlk 1 Yıl	69	61 (13,3)	360	136 (29,6)	177	160 (35,1)	372	133 (29,2)	978	395 (43,2)
> 1 Yıl	69	61 (13,3)	360	136 (29,6)	177	160 (35,1)	372	133 (29,2)	978	395 (43,2)
2.doz sonrası										
İlk 30 Dakika	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)
İlk 24 Saat	33	32 (7,0)	21	14 (3,1)	71	65 (14,3)	24	16 (3,5)	149	114 (12,5)
İlk 3 Gün	45	43 (9,4)	64	30 (6,5)	93	83 (18,2)	60	32 (7,0)	262	164 (17,9)
İlk 7 Gün	47	45 (9,8)	93	39 (8,5)	98	87 (19,1)	91	43 (9,4)	329	184 (20,1)
İlk 14 Gün	48	46 (10,0)	115	46 (10,0)	98	87 (19,1)	115	51 (11,2)	376	195 (21,3)
İlk 1 Ay	49	47 (10,2)	149	59 (12,9)	99	87 (19,1)	163	66 (14,5)	460	218 (23,8)



	CoronaVac Kolu (n=459)				TURKOVAC Kolu (n=456)				Toplam (n=915)	
	Lokal		Sistemik		Lokal		Sistemik		Toplam	
	Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü
	n	n (%)	n	n (%)	n	n (%)	n	n (%)	n	n (%)
İlk 3 Ay	52	50 (10,9)	252	83 (18,1)	99	87 (19,1)	225	80 (17,5)	628	250 (27,3)
İlk 6 Ay	52	50 (10,9)	301	94 (20,5)	99	87 (19,1)	279	92 (20,2)	731	268 (29,3)
İlk 1 Yıl	52	50 (10,9)	338	105 (22,9)	99	87 (19,1)	313	100 (21,9)	802	284 (31,0)
>1 Yıl	52	50 (10,9)	341	106 (23,1)	99	87 (19,1)	314	100 (21,9)	806	284 (31,0)

*CoronaVac kolundaki gönüllü sayısı 459, TURKOVAC kolundaki gönüllü sayısı 456, Toplam gönüllü sayısı 915.

**Tabloda bildirilen advers olay sayıları kümülatif olarak belirtilmiştir.

TABLO 6.11B TURKOVAC PRİMER FAZ III ÇALIŞMASI ADVERS OLAY SAYILARI

		Lokal		Sistemik		Toplam							
		CoronaVac Kolu (n=459)		TURKOVAC Kolu (n=456)		CoronaVac Kolu (n=459)		TURKOVAC Kolu (n=456)		Toplam (n=915)			
		Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü	p	Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü	p	Olay	Gönüllü
		n	n (%)	n	n (%)		n	n (%)	n	n (%)		n	n (%)
1.doz sonrası	İlk 30 Dakika	3	3 (0,7)	4	4 (0,9)	0,725	1	1 (0,2)	0	0 (0)	-	8	8 (0,9)



	Lokal					Sistemik					Toplam	
	CoronaVac Kolu (n=459)		TURKOVAC Kolu (n=456)		p	CoronaVac Kolu (n=459)		TURKOVAC Kolu (n=456)		p	Toplam (n=915)	
	Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü		Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü		Olay	Gönüllü
	n	n (%)	n	n (%)	n	n (%)	n	n (%)	n	n (%)		
İlk 30 Dakika- İlk 24 Saat	39	37 (8,1)	110	103 (22,6)	<0,001	61	36 (7,8)	35	27 (5,9)	0,251	245	183 (20)
İlk 24 Saat-İlk 3 Gün	16	15 (3,3)	54	51 (11,2)	<0,001	84	48 (10,5)	96	56 (12,3)	0,385	250	153 (16,7)
İlk 3 Gün-İlk 7 Gün	8	6 (1,3)	4	4 (0,9)	0,753	51	28 (6,1)	62	28 (6,1)	0,980	125	65 (7,1)
İlk 7 Gün-İlk 14 Gün	0	0 (0,0)	2	1 (0,2)	-	46	21 (4,6)	69	37 (8,1)	0,028	117	58 (6,3)
İlk 14 Gün-İlk 1 Ay	3	3 (0,7)	3	3 (0,7)	1,000	107	40 (8,7)	105	34 (7,5)	0,485	218	79 (8,6)
İlk 1 Ay-İlk 3 Ay	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	-	7	3 (0,7)	3	2 (0,4)	1,000	10	5 (0,5)
İlk 3 Ay-İlk 6 Ay	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	-	3	2 (0,4)	1	1 (0,2)	-	4	3 (0,3)
İlk 6 Ay-İlk 1 Yıl	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	-	0	0 (0,0)	1	1 (0,2)	-	1	1 (0,1)
İlk 1 Yıl->1 Yıl	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	-	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	-	0	0 (0,0)



		Lokal					Sistemik					Toplam	
		CoronaVac Kolu (n=459)		TURKOVAC Kolu (n=456)			CoronaVac Kolu (n=459)		TURKOVAC Kolu (n=456)			Toplam (n=915)	
		Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü	p	Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü	p	Olay	Gönüllü
		n	n (%)	n	n (%)		n	n (%)	n	n (%)		n	n (%)
2.doz sonrası	İlk 30 Dakika	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	-	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	-	0	0 (0,0)
	İlk 30 Dakika-İlk 24 Saat	33	32 (7,0)	71	65 (14,3)	<0,001	21	14 (3,1)	24	16 (3,5)	0,697	149	114 (12,5)
	İlk 24 Saat-İlk 3 Gün	12	11 (2,4)	22	20 (4,4)	0,096	43	20 (4,4)	36	18 (3,9)	0,756	113	64 (7,0)
	İlk 3 Gün-İlk 7 Gün	2	2 (0,4)	5	4 (0,9)	0,450	29	14 (3,1)	31	15 (3,3)	0,836	67	34 (3,7)
	İlk 7 Gün-İlk 14 Gün	1	1 (0,2)	0	0 (0,0)	-	22	12 (2,6)	24	12 (2,6)	0,987	47	25 (2,7)
	İlk 14 Gün-İlk 1 Ay	1	1 (0,2)	1	1 (0,2)	-	34	16 (3,5)	48	20 (4,4)	0,484	84	38 (4,2)
	İlk 1 Ay-İlk 3 Ay	3	3 (0,7)	0	0 (0,0)	-	103	35 (7,6)	62	28 (6,1)	0,375	168	65 (7,1)
	İlk 3 Ay-İlk 6 Ay	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	-	49	20 (4,4)	54	19 (4,2)	0,887	103	39 (4,3)



	Lokal					Sistemik					Toplam	
	CoronaVac Kolu (n=459)		TURKOVAC Kolu (n=456)		p	CoronaVac Kolu (n=459)		TURKOVAC Kolu (n=456)		p	Toplam (n=915)	
	Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü		Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü		Olay	Gönüllü
	n	n (%)	n	n (%)	n	n (%)	n	n (%)	n	n (%)		
İlk 6 Ay-İlk 1 Yıl	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	-	37	18 (3,9)	34	14 (3,1)	0,483	71	32 (3,5)
İlk 1 Yıl->1 Yıl	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	-	3	2 (0,4)	1	1 (0,2)	-	4	3 (0,3)

*CoronaVac kolundaki gönüllü sayısı 459, TURKOVAC kolundaki gönüllü sayısı 456, Toplam gönüllü sayısı 915.

**Tabloda bildirilen advers olay sayıları kümülatif değildir.

TABLO 6.12A TURKOVAC PRİMER FAZ III ÇALIŞMASI BİLDİRİLEN CİDDİ ADVERS OLAY SAYILARI

		CoronaVac Kolu (n=459)		TURKOVAC Kolu (n=456)		Toplam (n=915)	
		Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü
		n	n (%)	n	n (%)	n	n (%)
1.doz sonrası	İlk 30 Dakika	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)
	İlk 24 Saat	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)
	İlk 3 Gün	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)
	İlk 7 Gün	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)
	İlk 14 Gün	0	0 (0,0)	1	1 (0,2)	1	1 (0,1)



		CoronaVac Kolu (n=459)		TURKOVAC Kolu (n=456)		Toplam (n=915)	
		Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü
		n	n (%)	n	n (%)	n	n (%)
	İlk 1 Ay	1	1 (0,2)	1	1 (0,2)	2	2 (0,2)
	İlk 3 Ay	1	1 (0,2)	1	1 (0,2)	2	2 (0,2)
	İlk 6 Ay	1	1 (0,2)	1	1 (0,2)	2	2 (0,2)
	İlk 1 Yıl	1	1 (0,2)	2	2 (0,4)	3	3 (0,3)
	> 1 Yıl	1	1 (0,2)	2	2 (0,4)	3	3 (0,3)
2.doz sonrası	İlk 30 Dakika	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)
	İlk 24 Saat	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)
	İlk 3 Gün	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)
	İlk 7 Gün	0	0 (0,0)	1	1 (0,2)	1	1 (0,1)
	İlk 14 Gün	0	0 (0,0)	2	2 (0,4)	2	2 (0,2)
	İlk 1 Ay	1	1 (0,2)	2	2 (0,4)	3	3 (0,3)
	İlk 3 Ay	3	3 (0,7)	2	2 (0,4)	5	5 (0,5)
	İlk 6 Ay	3	3 (0,7)	2	2 (0,4)	5	5 (0,5)
	İlk 1 Yıl	4	4 (0,9)	6	6 (1,3)	10	10 (1,1)
	> 1 Yıl	4	4 (0,9)	6	6 (1,3)	10	10 (1,1)



*CoronaVac kolundaki gönüllü sayısı 459, TURKOVAC kolundaki gönüllü sayısı 456, Toplam gönüllü sayısı 915.

**Tabloda bildirilen advers olay sayıları kümülatif olarak belirtilmiştir.

TABLO 6.12B TURKOVAC PRİMER FAZ III ÇALIŞMASI BİLDİRİLEN CİDDİ ADVERS OLAY SAYILARI

		CoronaVac Kolu (n=459)		TURKOVAC Kolu (n=456)		Toplam (n=915)	
		Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü
		n	n (%)	n	n (%)	n	n (%)
1.doz sonrası	İlk 30 Dakika	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)
	İlk 30 Dakika-İlk 24 Saat	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)
	İlk 24 Saat-İlk 3 Gün	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)
	İlk 3 Gün-İlk 7 Gün	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)
	İlk 7 Gün-İlk 14 Gün	0	0 (0,0)	1	1 (0,2)	1	1 (0,1)
	İlk 14 Gün-İlk 1 Ay	1	1 (0,2)	0	0 (0,0)	1	1 (0,1)
	İlk 1 Ay-İlk 3 Ay	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)
	İlk 3 Ay-İlk 6 Ay	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)
	İlk 6 Ay-İlk 1 Yıl	0	0 (0,0)	1	1 (0,2)	1	1 (0,1)
	İlk 1 Yıl-> 1 Yıl	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)
2.doz sonrası	İlk 30 Dakika	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)



	CoronaVac Kolu (n=459)		TURKOVAC Kolu (n=456)		Toplam (n=915)	
	Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü
	n	n (%)	n	n (%)	n	n (%)
İlk 30 Dakika-İlk 24 Saat	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)
İlk 24 Saat-İlk 3 Gün	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)
İlk 3 Gün-İlk 7 Gün	0	0 (0,0)	1	1 (0,2)	1	1 (0,1)
İlk 7 Gün-İlk 14 Gün	0	0 (0,0)	1	1 (0,2)	1	1 (0,1)
İlk 14 Gün-İlk 1 Ay	1	1 (0,2)	0	0 (0,0)	1	1 (0,1)
İlk 1 Ay-İlk 3 Ay	2	2 (0,4)	0	0 (0,0)	2	2 (0,2)
İlk 3 Ay-İlk 6 Ay	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)
İlk 6 Ay-İlk 1 Yıl	1	1 (0,2)	4	4 (0,9)	5	5 (0,5)
İlk 1 Yıl->1 Yıl	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)

*CoronaVac kolundaki gönüllü sayısı 459, TURKOVAC kolundaki gönüllü sayısı 456, Toplam gönüllü sayısı 915.

**Tabloda bildirilen advers olay sayıları kümülatif değildir.

***1.doz sonrası bildirilen ciddi advers olaylar; ilk 14 gün içinde COVID-19 (+) nedeniyle hastaneye yatış, ilk 1 ay içinde böbrek taşı nedeniyle hastaneye yatış olurken, 2.doz sonrası bildirilen ciddi advers olaylar; ilk 7 gün içinde ateşli COVID-19 (+) nedeniyle hastaneye yatış, ilk 14 gün içinde ateşli COVID-19 (+) nedeniyle hastaneye yatış, ilk 1 ay içinde şeker hastalığı olarak bildirilmiştir.



TABLO 6.13 TURKOVAC PRİMER FAZ III ÇALIŞMASI EN SIK BİLDİRİLEN ADVERS OLAY SAYILARI

		CoronaVac	TURKOVAC	Toplam
Lokal	Enjeksiyon Bölgesinde Ağrı	96	224	320
	Enjeksiyon Bölgesinde Sertleşme Veya Şişme	10	19	29
	Enjeksiyon Bölgesindeki Kol Ağrısı	7	11	18
	Enjeksiyon Bölgesinde Sertlik	3	7	10
	Enjeksiyon Bölgesinde Kızarıklık	4	5	9
Sistemik	Baş Ağrısı	107	107	214
	Yorgunluk	92	106	198
	Boğaz Ağrısı	74	66	140
	Öksürük	64	58	122
	Kas Ağrısı	51	57	108

*CoronaVac kolundaki gönüllü sayısı 459, TURKOVAC kolundaki gönüllü sayısı 456, Toplam gönüllü sayısı 915.

VI.VII.III Genel Sonuç:

RT-PCR ile doğrulanmış semptomatik COVID-19 hastalığına karşı iki doz TURKOVAC ile iki doz CoronaVac aşılarının etkililiğini değerlendirmeyi amaçlayan Primer Faz 3 çalışmasında, aşılanmanın etkililiği açısından TURKOVAC ve karşılaştırma ürünü olan CoronaVac kolları arasında belirgin bir farklılık görülmemiştir. Güvenlilik açısından ise analiz sonuçlarına göre aşıların uygulandığı anatomik bölgelerde gelişen istenmeyen etkilerin, göreceli olarak TURKOVAC aşı kolunda daha yoğun olduğu görülmekle birlikte bu istenmeyen etkilerin hiçbirinin gündelik yaşama etkisinin olmaması ve büyüklüğünün dar alanda olması nedeni ile aşının adjuvanı olan alimünyum miktarı ile ilişkili olduğu düşünülmüştür. Bu bağlamda her iki grupta da güvenliliği tehdit eden herhangi bir bulguya rastlanmamıştır.

Sonuç olarak, uygulanan her iki aşı da kabul edilebilir bir güvenlik profiliyle antikor titrelerinde artışa yol açmıştır.

EK.5: Makale-TURKOVAC Primer Faz 3 “*Efficacy, Immunogenicity, and Safety of the Two-Dose Schedules of TURKOVAC versus CoronaVac in Healthy Subjects: A Randomized, Observer-Blinded, Non-Inferiority Phase III Trial*”



VII-TURKOVAC KLİNİK ARAŞTIRMALARI

RAPEL FAZ III



VII-TURKOVAC KLİNİK ARAŞTIRMASI- RAPEL FAZ III

VII.I Çalışma Başlığı:

“SARS-CoV-2'ye Karşı Rapel Aşılamanın Etkililiğini, Güvenliliğini ve İmmünojenitesini Belirlemek için Açık Etiketli, Çok Merkezli, Faz 3 Klinik Çalışma”

VII.II. Çalışma Kodu:

Protokol kodu: TSB-VAC-COV-TUR-RF2B.05

VII.III. Çalışmanın Yapıldığı Merkezler ve Araştırmacı Bilgileri:

VII.III. I. Koordinatör Merkez:

Ankara Bilkent Şehir Hastanesi

VII.III.II. Koordinatör Araştırmacı:

İdari Koordinatör: Doç. Dr. İhsan Ateş

Koordinatör Araştırmacı: Doç. Dr. Bedia Dinç

VII.III.III. Çalışmanın Yapıldığı Diğer Merkezler ve Sorumlu Araştırmacıları:

Tablo 7.1 TURKOVAC Rapel Faz 3 klinik araştırmasının merkezleri ve sorumlu araştırmacıları

<i>KLİNİK ARAŞTIRMA MERKEZLERİ</i>	<i>ARAŞTIRMACILAR</i>
<ul style="list-style-type: none">Ankara Bilkent Şehir Hastanesi	<ul style="list-style-type: none">Doç. Dr. Bedia Dinç
<ul style="list-style-type: none">Dışkapı SUAM, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji	<ul style="list-style-type: none">Prof. Dr. İrfan Şencan
<ul style="list-style-type: none">SBÜ Ankara Atatürk Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi	<ul style="list-style-type: none">Prof. Dr. Kurtuluş Aksu
<ul style="list-style-type: none">İstanbul Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi- Enfeksiyon Hastalıkları	<ul style="list-style-type: none">Prof. Dr. Ayşe Batirel
<ul style="list-style-type: none">Başakşehir Çam ve Sakura Şehir Hastanesi	<ul style="list-style-type: none">Prof. Dr. Özlem Altuntaş Aydın
<ul style="list-style-type: none">Ümraniye Eğitim ve Araştırma Hastanesi - Enfeksiyon Hastalıkları	<ul style="list-style-type: none">Doç. Dr. Mehtap Aydın



<ul style="list-style-type: none">Sancaktepe Şehit Profesör İlhan Varank Eğitim ve Araştırma Hastanesi - Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği	<ul style="list-style-type: none">Doç. Dr. Fatma Yılmaz Karadağ
<ul style="list-style-type: none">Seyrantepe Hamidiye Etfal Şehir Hastanesi	<ul style="list-style-type: none">Prof. Dr. İlyas Dökmetaş
<ul style="list-style-type: none">İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa T.F., Dahili Tıp Bilimleri Bölümü - Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji A.B.D.	<ul style="list-style-type: none">Prof. Dr. Ömer Fehmi Tabak
<ul style="list-style-type: none">Sağlık Bilimleri Üniversitesi Dr. Suat Seren Göğüs Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi	<ul style="list-style-type: none">Uzm. Dr. Özgür Batum
<ul style="list-style-type: none">İzmir Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji A.B.D.	<ul style="list-style-type: none">Prof. Dr. Şükran Köse
<ul style="list-style-type: none">İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Atatürk EAH, enfeksiyon Hastalıkları Kliniği	<ul style="list-style-type: none">Prof. Dr. Tuna Demirdal
<ul style="list-style-type: none">Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi	<ul style="list-style-type: none">Doç. Dr. Ferit Kuşçu
<ul style="list-style-type: none">Aydın Devlet Hastanesi	<ul style="list-style-type: none">Uz. Dr. Ferdi Güneş
<ul style="list-style-type: none">Uludağ Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji A.B.D.	<ul style="list-style-type: none">Prof. Dr. Emin Halis Akalın
<ul style="list-style-type: none">Kayseri Şehir E.A.H., Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji A.B.D.	<ul style="list-style-type: none">Prof. Dr. İlhami Çelik
<ul style="list-style-type: none">Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi	<ul style="list-style-type: none">Prof. Dr. Orhan Yıldız
<ul style="list-style-type: none">S. B. Üniversitesi Derince Eğitim Araştırma Hastanesi	<ul style="list-style-type: none">Uzm. Dr. Selcan Arslan Özel
<ul style="list-style-type: none">Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji A.B.D.	<ul style="list-style-type: none">Prof. Dr. Sıla Akhan
<ul style="list-style-type: none">Malatya İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı	<ul style="list-style-type: none">Prof. Dr. Yaşar Bayındır
<ul style="list-style-type: none">SBÜ Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi	<ul style="list-style-type: none">Doç. Dr. Remziye Nur Eke



<ul style="list-style-type: none">Abant İzzet Baysal Üniversitesi İzzet Baysal Eğitim Araştırma Hastanesi	<ul style="list-style-type: none">Dr. Öğr. Üyesi Muhammed Emin Demirkol
<ul style="list-style-type: none">Bursa Şehir Hastanesi	<ul style="list-style-type: none">Uzm. Dr. Canan Demir
<ul style="list-style-type: none">Elazığ Fethi Sekin Şehir Hastanesi	<ul style="list-style-type: none">Doç. Dr. Gülden Eser Karlıdağ
<ul style="list-style-type: none">Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları A.B.D	<ul style="list-style-type: none">Doç. Dr. Faruk Karakeçili
<ul style="list-style-type: none">Erzurum Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesi	<ul style="list-style-type: none">Dr. Öğr. Üyesi Sibel İba Yılmaz
<ul style="list-style-type: none">Eskişehir Şehir Hastanesi	<ul style="list-style-type: none">Uzm. Dr. Anıl Uçan
<ul style="list-style-type: none">Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık, Uygulama ve Araştırma Hastanesi	<ul style="list-style-type: none">Prof. Dr. Nurettin Erben
<ul style="list-style-type: none">Gaziantep Dr. Ersin Arslan Eğitim ve Araştırma Hastanesi	<ul style="list-style-type: none">Doç. Dr. İbrahim Halil Türkbeyler
<ul style="list-style-type: none">Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Enfeksiyon Hastalıkları	<ul style="list-style-type: none">Prof. Dr. Selma Ateş
<ul style="list-style-type: none">Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı	<ul style="list-style-type: none">Doç. Dr. Aydın Çiftçi
<ul style="list-style-type: none">Konya Şehir Hastanesi	<ul style="list-style-type: none">Uzm. Dr. Arzu Tarakçı
<ul style="list-style-type: none">Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	<ul style="list-style-type: none">Prof. Dr. Öznur Ak
<ul style="list-style-type: none">Manisa Şehir Hastanesi	<ul style="list-style-type: none">Uzm. Dr. Sevil Sapmaz Karabağ
<ul style="list-style-type: none">Mersin Şehir ve Eğitim Araştırma Hastanesi	<ul style="list-style-type: none">Uzm. Dr. Mustafa Uğuz
<ul style="list-style-type: none">Mehmet Akif İnan Eğitim ve Araştırma Hastanesi	<ul style="list-style-type: none">Uzm. Dr. İclal Hocalı
<ul style="list-style-type: none">Tekirdağ Çorlu Devlet Hastanesi	<ul style="list-style-type: none">Doç. Dr. Mustafa Doğan
<ul style="list-style-type: none">Sağlık Bilimleri Üniversitesi Kanuni Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji	<ul style="list-style-type: none">Uzm. Dr. Özlem Bayraktar Saral



<ul style="list-style-type: none">• Van Eğitim Araştırma Hastanesi	<ul style="list-style-type: none">• Prof. Dr. Mahmut Sünnetçioğlu
<ul style="list-style-type: none">• Denizli Devlet Hastanesi	<ul style="list-style-type: none">• Uzm. Dr. Emin Egemen Tekin
<ul style="list-style-type: none">• Balıkesir Atatürk Şehir Hastanesi	<ul style="list-style-type: none">• Uz. Dr. Ali Korhan Sığ

VII.IV. Çalışmada Kullanılan Ürünler:

Bu çalışmada kullanılacak olan araştırma ürünü inaktif COVID-19 aşısı olan TURKOVAC'tır. TURKOVAC aşısının dozu 3 µg/ 0.5 ml olacaktır ve deltoid kas içine enjeksiyon yolu ile uygulanacaktır. Bu çalışmada Dollvet Veteriner Aşı İlaç Biyolojik Madde Üretim San. ve Tic. A.Ş. tarafından üretilmiş ve TURKOVAC-Dollvet olarak tanımlanmış.

VII.V. Çalışma Dizaynı:

Çalışmaya 2 aşı kolu için 5.934 (4.747 TURKOVAC-1.187 CoronaVac) gönüllü alınması planlanmıştır. Gerektiğinde telefon veya SMS aracılığıyla gönüllülere ulaşılarak çalışmaya davet edileceklerdir. CoronaVac aşısının ilk kürünün 2. dozundan sonra en az 90 gün ve en fazla 270 gün geçmiş olan gönüllülere rapel doz aşısı (TURKOVAC veya CoronaVac) uygulanacaktır. Aşılama taramadan bir gün sonra yapılabilir. Gönüllü seçim kriterlerine uyan gönüllülere herhangi bir işlem yapılmadan önce çalışma detaylı anlatılacak ve Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu (BGOF)'nu imzalamaları istenecektir. BGOF'u imzalayan tüm gönüllülere aşı öncesi SARS-CoV-2 PCR testi yapılacak ve pozitif çıkanlar çalışmanın güvenlik analizi grubuna dahil edileceklerdir. Bu gönüllüler etkinlik açısından takip edilmeyeceklerdir. Ayrıca kadın gönüllüler için aşı uygulaması öncesinde idrar strip gebelik testi yapılacak ve pozitif çıkanlar çalışmaya alınmayacaklardır.

VII.V.I. Çalışmanın Amacı:

Birincil Amaç:

- CoronaVac aşısının 2. dozundan sonra en az 90 gün ve en fazla 270 gün geçmiş olanlara verilen inaktive edilmiş COVID-19 aşılarda rapel dozlarının etkililiğinin değerlendirilmesi.

İkincil Amaçlar:

- Advers reaksiyonların ve ciddi advers olayların insidansını belirleyerek rapel doz aşılarda güvenliğinin değerlendirilmesi.
- Rapel doz aşılarda immünojenitesinin değerlendirilmesi.
- Rapel dozdan 0, 28 (tüm gönüllülerden), 48, 84 ve 168. günden (gönüllülerin %50'sinden) sonraki SARS-CoV2 spesifik bağlayıcı antikor seropozitiflik oranının belirlenmesi.
- Rapel dozdan 0, 28 (tüm gönüllülerden), 48, 84 ve 168. (gönüllülerin %50'sinden) günden sonraki nötralizasyon testi ile SARS-CoV2 nötralizasyon edici antikorların değerlendirilmesi.
- Rapel dozdan 0, 28 (tüm gönüllülerden) 48, 84 ve 168. (gönüllülerin %50'sinden) günden sonraki pseudo nötralizasyon testi ile humoral immün yanıtın değerlendirilmesi.



- 150 gönüllüde T hücre değerlendirmesi.

VII.V.II. Çalışmanın Süresi:

Araştırma süresi: Toplam Gönüllü temini ile birlikte yaklaşık olarak 21 ay olarak planlanmaktadır.

Etik Komite Onay Tarihi: 05.10.2021

TİTCK Onay Tarihi: 07.10.2021

İlk Gönüllü Alım Tarihi (Araştırmanın başlangıcı); 08.10.2021 tarihinde ilk gönüllünün alınmasıyla başladı.

Son Gönüllü Alım Tarihi; en son gönüllü 28.03.2022 de alındı

Sonlanım noktası: 4340 gönüllü

VII.VI. Çalışma Metodolojisi:

Klinik Araştırmanın Sonuçların Değerlendirmesi Planı / Metodolojisi

Tüm gönüllülerden rapel aşı dozu öncesinde ve doz yapıldıktan sonra 30. dakika ve 28. günde ve gönüllülerin %50'sinde doz yapıldıktan sonra 48. gün, 84. gün ve 168. günde vital bulguları (alın sıcaklığı, oksijen saturasyonu, kan basıncı ve solunum sayısı) ölçülecektir. Tüm gönüllüler aşı sonrası 30 dakika boyunca döküntü, dilde şişme, aşı yapılan kolda ağrı, şişlik, kızarıklık, uyuşma da dahil olmak üzere advers olaylar açısından izleneceklerdir. Advers olaylar uygulama sonrası 7 gün süresince günlük olarak, sonrasında 365. güne kadar haftalık olarak telefon ziyaretleri ile rutin takip edilecektir. Advers olayların şiddeti, başlama zamanı, süresi ve varsa tarihiyle birlikte hastaneye başvuru ya da yatış gereksinimi Olgu Rapor Formu'na kaydedilecektir. Tüm gönüllülerden 0, 28. günlerde immünojenite için kan alınacaktır. Değerlendirilen birincil sonuçlar, her 2 aşı grubu için kendi içinde değerlendirilecektir. 28. günde her 2 grupta SARS-CoV-2 nötralizan antikor, pseudo nötralizan antikor ve anti-spike protein IgG'deki değişim miktarı değerlendirilecektir. Her 2 aşı kolu için SARS-CoV-2 nötralizan antikor, pseudo nötralizan antikor ve anti-spike protein IgG ölçümü gönüllülerin %50'sinde 48, 84 ve 168. günde tekrarlanacaktır. Tüm gönüllüler yan etki değerlendirilmesi için 365. güne kadar izlenecektir. 28, 48 ve 84. günlerdeki çalışma ziyaretlerinde akut solunum hastalığı (ateşli veya ateşsiz orta veya şiddetli hastalık) ile ateş (alın sıcaklığı 37,8°C'den yüksek) olan gönüllülerin ziyaretleri akut durum iyileştikten sonra yapılacaktır. Çalışmada planlanan ziyaretler dışında meydana gelebilecek herhangi bir durum karşısında gönüllülere planlanmamış ziyaretlerde yapılacaktır. SARS-CoV-2 Nötralize Edici Antikor tespiti için Virüs Nötralizasyon Testi tekniği uygulanacaktır. Kan serumu örnekleri 56°C'de 30 dakika inaktive edildikten sonra aynı hacimde 100DKID50 SARS-CoV2 (yaklaşık 1:100 seyreltilmiş virüs) ile karıştırılacak ve nötralizasyon için 37°C'de bir saat bekletilecektir. Bu sürenin sonunda Vero E6 hücreleri bu karışımla aşılacak ve 37°C'de 96 saat inkübe edilecektir. Test, hücre kültürü mikroskobunda virüs ve hücre kontrolü için kontrol edilecektir. Virüs kontrol bölümünde SARS-CoV2'ye özgü cpe'nin %100'ü gözlemlendiğinde test değerlendirilecektir. Pseudo nötralizan testi DiaSorin ETI-Max3000 cihazında ve Dia.Pro Diagnostic ACE2-RBD kiti ile çalışılacaktır. Ayrıca çalışmada her iki kolda da 75 olmak üzere toplam 150 gönüllüden de T hücre değerlendirmesi için kan alınacaktır. T hücre değerlendirmesi için kullanılacak test yöntemleri şu şekildedir: Periferik kan mononükleer hücreleri SARS-CoV-2 S1 peptid havuzu ile uyarılacaktır. Ardından T hücrelerdeki TNF- α ve IFN- γ düzeylerine ELISPOT ile bakılacak ve SARS-CoV-2'ye karşı spesifik oluşan Th1 yanıtları analiz edilecektir. ELISPOT testi proliferasyona dair bilgi de sağladığından SARS-CoV-2'ye karşı spesifik olarak çoğalabilen T



hücre kapasitesi de belirlenecektir. Th1 yanıtlarını ikinci bir yöntemle analiz etmek için akım sitometri deneyleri de planlanmıştır. Bu kapsamda, SARS-CoV-2 S1 peptid havuzu ile uyarılan mononükleer hücreler CD3+CD4+CD8-CD56- ve CD3+CD4-CD8+CD56- immüfenotipe göre ayrılacak, daha sonra hücre içinde yer alan IL-2, TNF- α ve IFN- γ düzeyleri değerlendirilecektir. Bu sayede, SARS-CoV-2'ye karşı spesifik olarak uyarılan CD4+ ve CD8+ T hücrelerin IL-2, TNF- α ve IFN- γ pozitifliği de analiz edilecektir.

VII.VI. I. Etkinlik:

Değerlendirme Kriterleri;

Birincil Değerlendirme Kriterleri:

- Rapel aşılama dozundan en az 14 gün sonra RT-PCR testi pozitif olan ve 24 saat içinde en az 1 semptom gösteren gönüllülerde COVID-19'a karşı TURKOVAC ve CoronaVac aşılarının koruyuculuk oranları.
- Gönüllülerde 0, 28 \pm 2 (tüm gönüllülerden) ve 48 \pm 4, 84 \pm 4 ve 168 \pm 8 günlerdeki (gönüllülerin %50'sinden): o SARS-CoV2 nötralizan ve pseudo nötralizan antikor miktarında başlangıca göre 28. günde artışın 2 kat ve üzeri olması o SARS-CoV2 anti-spike protein IgG miktarında başlangıca göre 28. günde artışın 2 kat ve üzeri olması o 150 gönüllüde T hücrelerdeki IL-2, TNF- α ve IFN- γ düzeylerinde başlangıca göre 28. günde artışın 2 kat ve üzeri olması

VII.VI.II. Güvenlik:

İkincil Değerlendirme Kriterleri:

- Tüm gönüllülerde aşılama sonrası 7-14. gün içinde advers reaksiyon insidansı (Telefon görüşmesi).
- Tüm gönüllülerde aşılama sonrası 365. güne kadar Ciddi Advers Olayların (CAO) insidansı.

İstatistik analiz planı;

İstatistiksel analiz için PASW 18.0 for Windows programı kullanılacaktır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi p değerinin 0,05'ten küçük olması durumu olarak kabul edilecektir. Tanımlayıcı istatistikler, kategorik değişkenler için sayı ve yüzdeler, sayısal değişkenler için ortalama, standart sapma, ortanca, minimum, maksimum, persentil 25, persentil 75 olarak sunulacaktır. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu görsel (histogram ve olasılık grafikleri) ve analitik yöntemler (Kolmogrov- Simirnov/Shapiro-Wilk testleri) kullanılarak incelenecektir. Esas olarak güvenlilik parametrelerini tanımlama ve değerlendirmeyi ve daha önceden tanımlanmış istatistiksel hipotezlerle test etmeden daha çok rutin klinik uygulamada güvenilirliğini belirlemeyi amaçlamaktadır. *Birincil değerlendirme kriterleri* için, TURKOVAC ile CoronaVac arasındaki karşılaştırmalar tanımlayıcı istatistiklerle özetlenecek ve uygun testlerle analizler yapılacaktır. Risk azaltma yüzdesi ile aşı etkinliği hesaplaması:

Relatif Risk azaltma = $100 \times (1 - \text{TURKOVAC İnsidans Oranı} / \text{CoronaVac İnsidans Oranı})$

İkincil değerlendirme kriterleri için, aşılama sonrası 7 gün içinde advers ilaç reaksiyon insidansı ve aşılama sonrası 365. Güne kadar Ciddi Advers Olayların (CAO) insidansı aşı gruplarında ayrı ayrı sunulmak üzere tanımlayıcı istatistik olarak özetlenecektir. Ayrıca

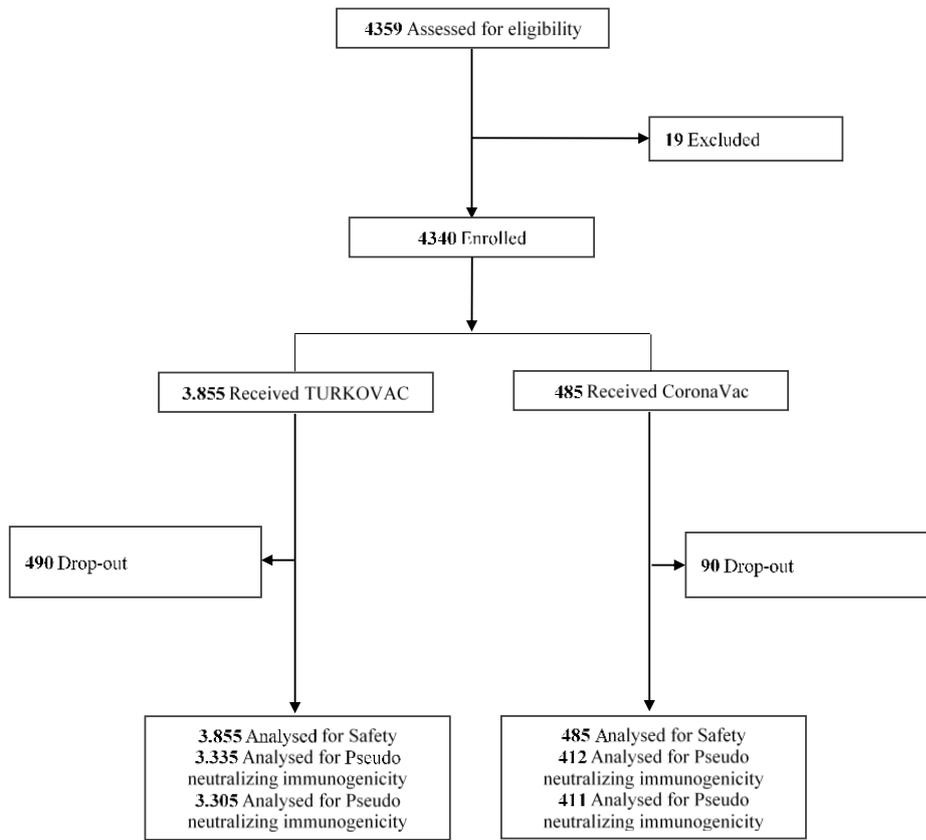


gönüllülerde 0, 28, 84 ve 168. günlerdeki SARS-CoV2 nötralizan ve pseudo nötralizan antikor miktarı ve SARS-CoV2 anti-spike protein IgG miktarı tanımlayıcı olarak sunulacaktır. SARS-CoV2 nötralizan ve pseudo nötralizan antikor miktarı ve SARS-CoV2 anti-spike protein IgG miktarında başlangıca göre 28. günde artışın 2 kat ve üzeri olan gönüllü oranları hesaplanacak ve aşı kolları arasında Ki-Kare koşulu sağlandığı durumda Ki-Kare testi, sağlanmadığı durumda ise Fisher Exact test kullanılarak incelenecektir.

VII.VII. Sonuçlar:

Gönüllü Dispozisyonu:

Tablo 7.2 TURKOVAC Rapel Faz 3 klinik araştırması gönüllü dispozisyonu



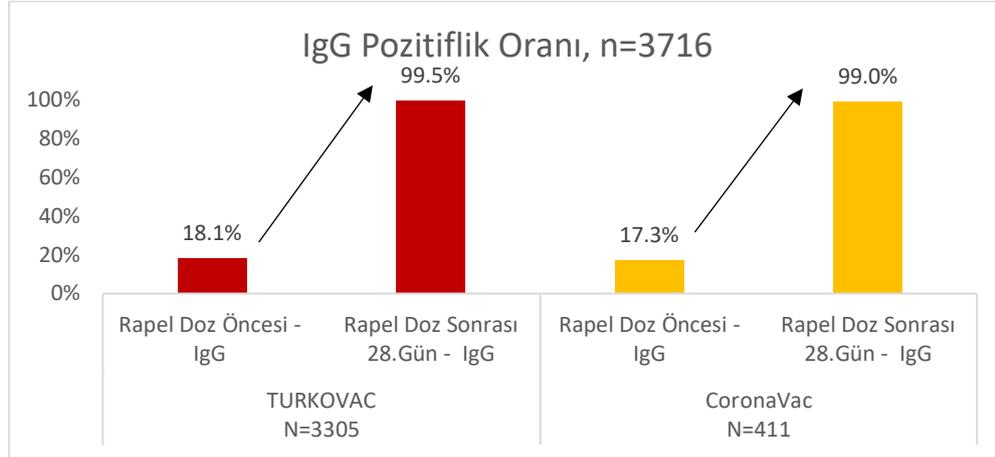
*İnaktif Rapel Faz 3 çalışmasına aşı kolu CoronaVac olan 483, TURKOVAC olan 3831 olmak üzere toplam 4314 gönüllü dahil edilmiştir.



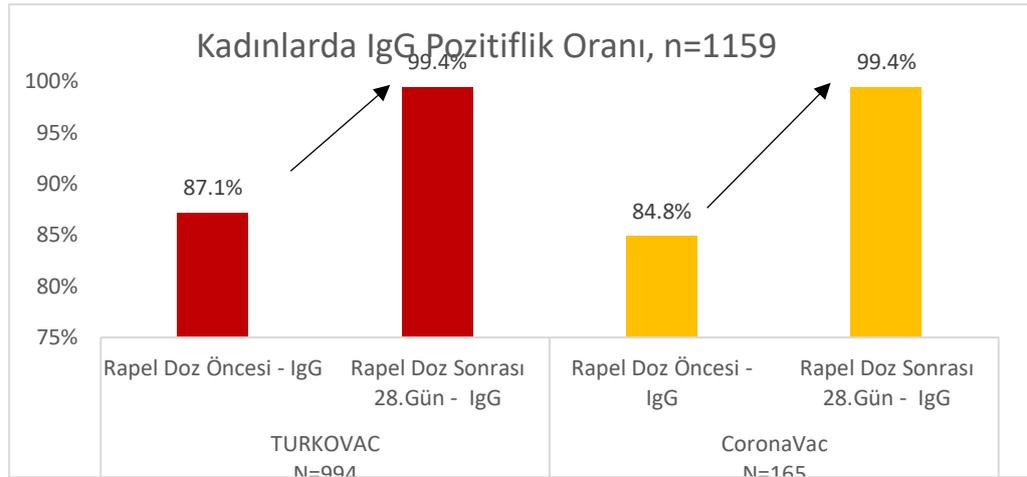
VII.VII. I. Etkinlik Sonuçları:

Immunojenisite:

Şekil 7.1 Tüm Gönüllülerde Görülen IgG Spike Pozitiflik Oranı

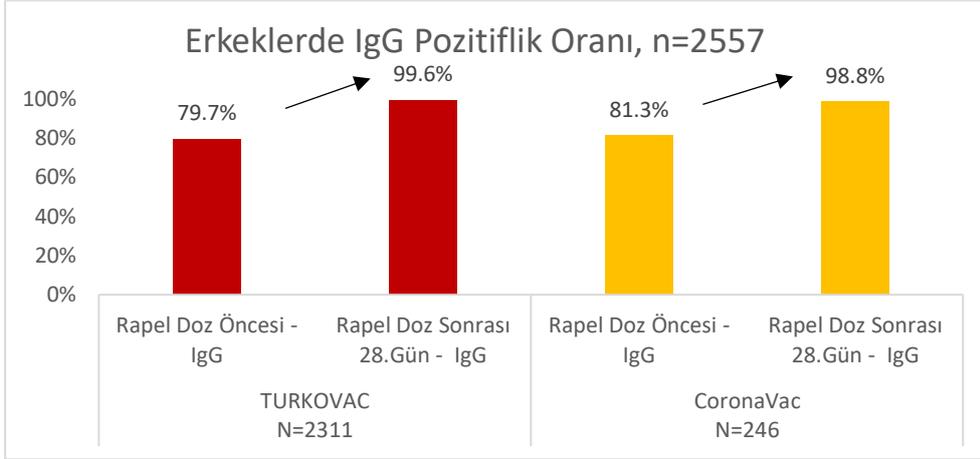


Şekil 7.2 Kadın Gönüllülerde Görülen IgG Spike Pozitiflik Oranı

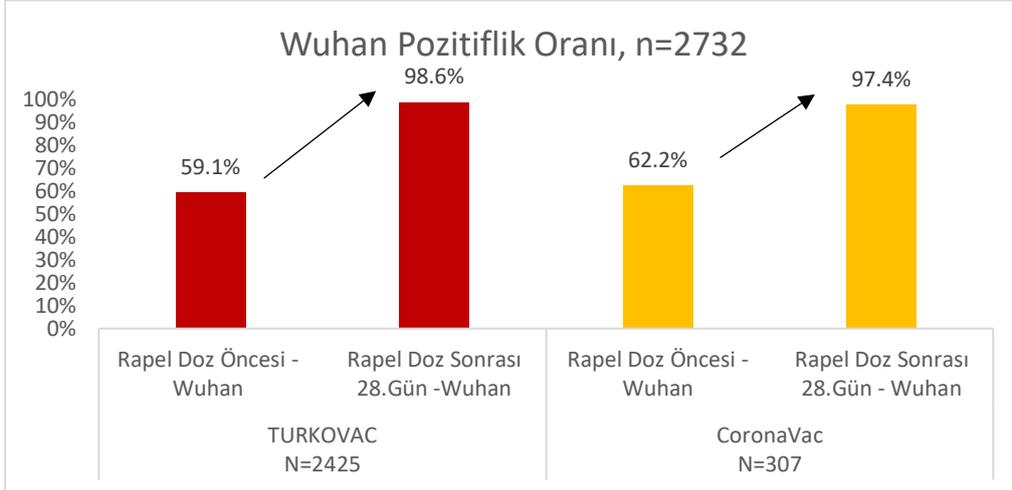




Şekil 7.3 Erkek Gönüllülerde Görülen IgG Spike Pozitiflik Oranı

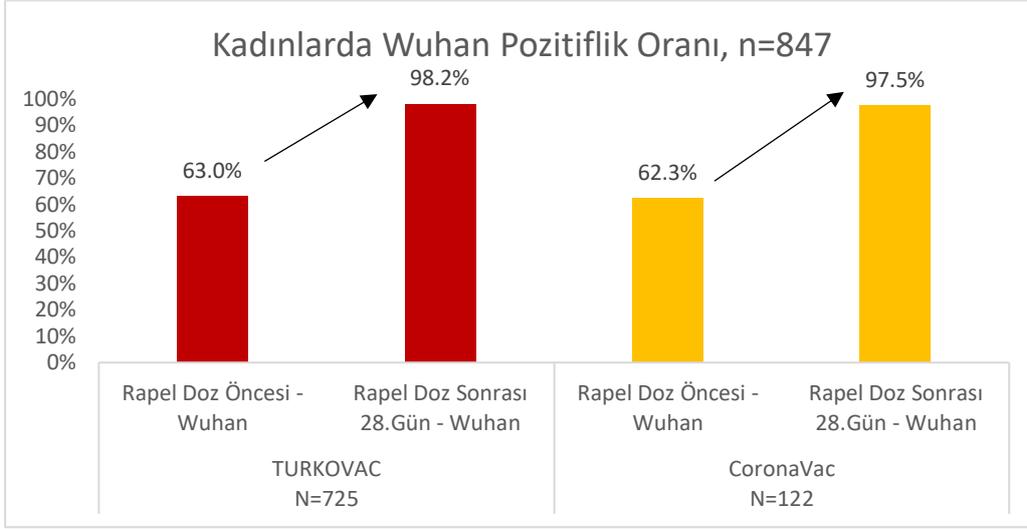


Şekil 7.4 Tüm Gönüllülerde Görülen Wuhan Pozitiflik Oranı

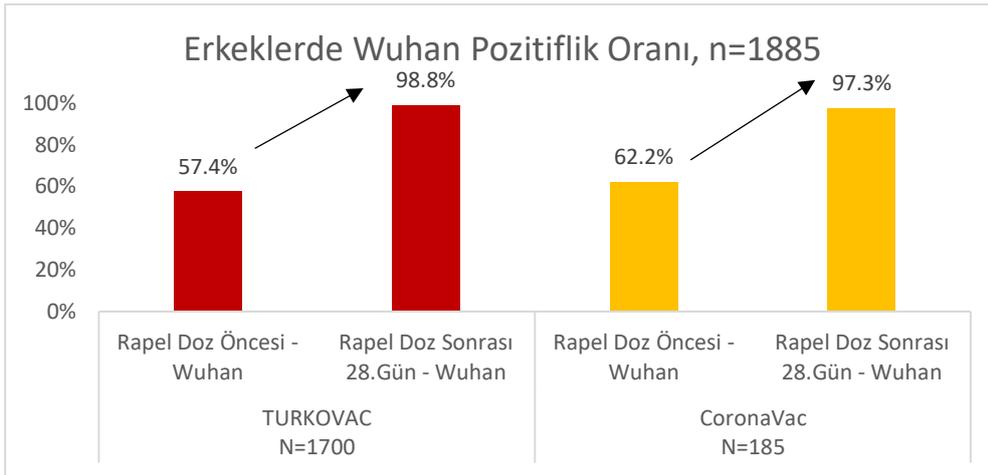




Şekil 7.5 Kadın Gönüllülerde Görülen Wuhan Pozitiflik Oranı

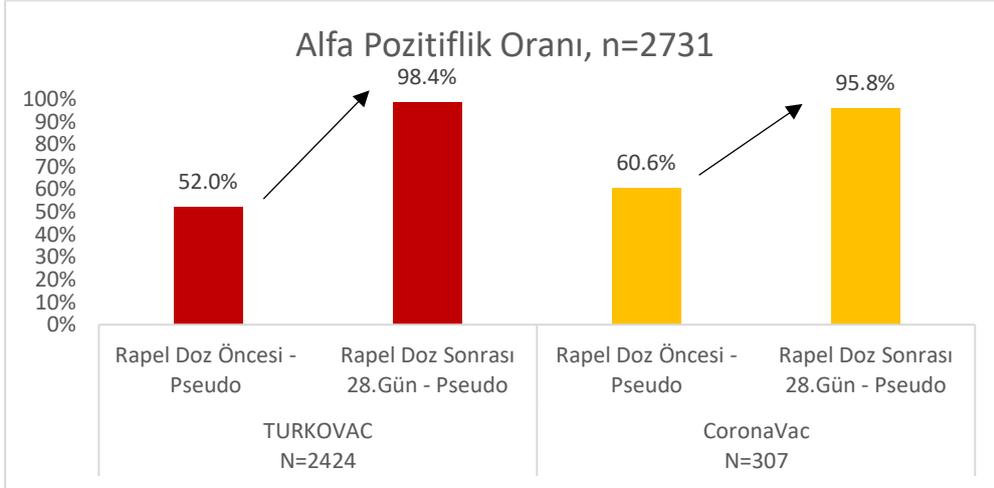


Şekil 7.6 Erkek Gönüllülerde Görülen Wuhan Pozitiflik Oranı

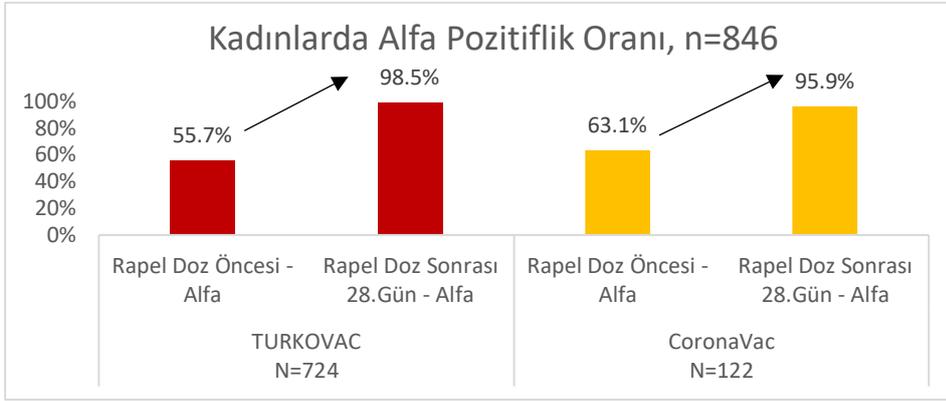




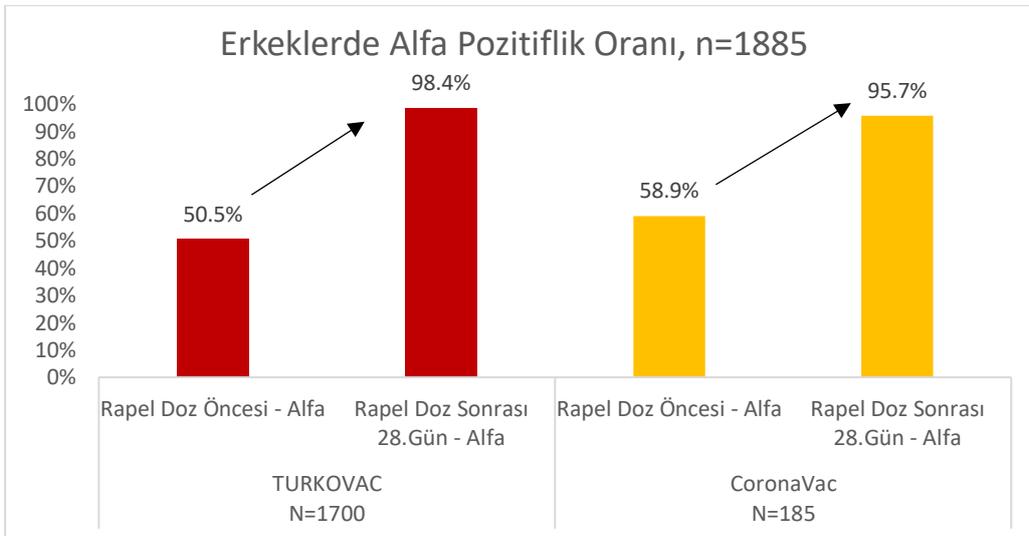
Şekil 7.7 Tüm Gönüllülerde Görülen Alfa Pozitiflik Oranı



Şekil 7.8 Kadın Gönüllülerde Görülen Alfa Pozitiflik Oranı

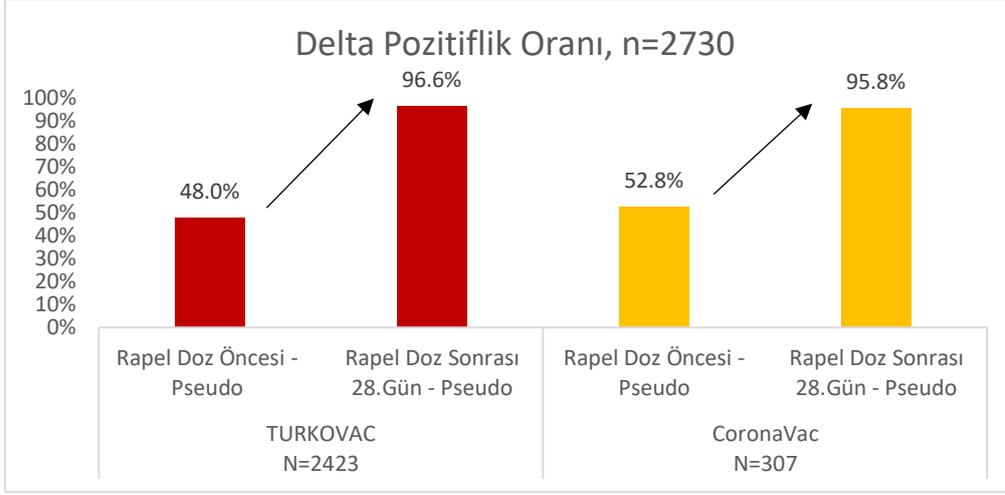


Şekil 7.9 Erkek Gönüllülerde Görülen Alfa Pozitiflik Oranı

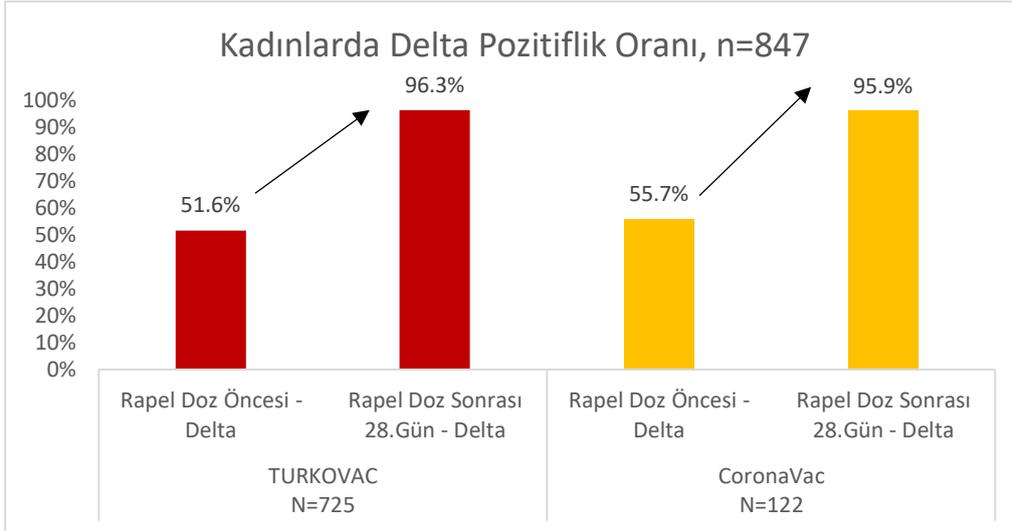




Şekil 7.10 Tüm Gönüllülerde Görülen Delta Pozitiflik Oranı

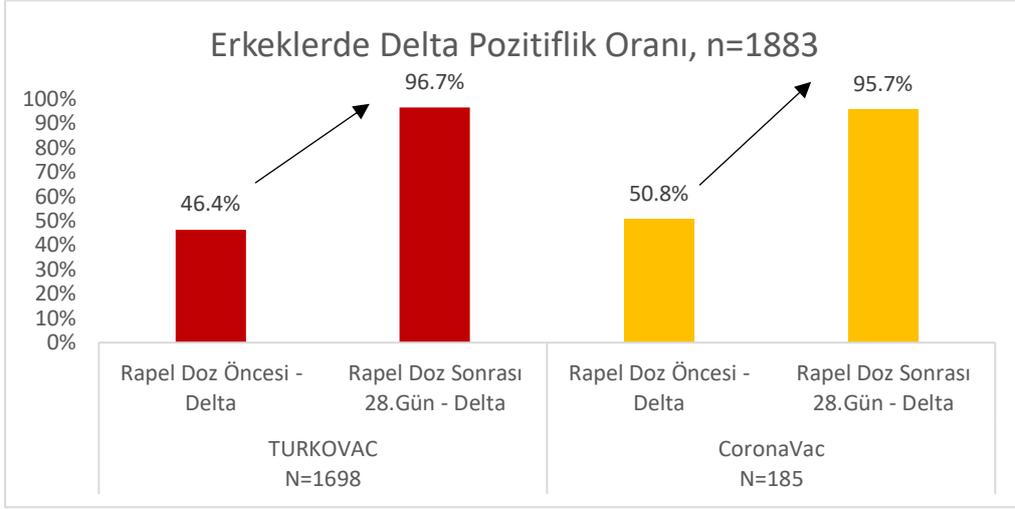


Şekil 7.11 Kadın Gönüllülerde Görülen Delta Pozitiflik Oranı

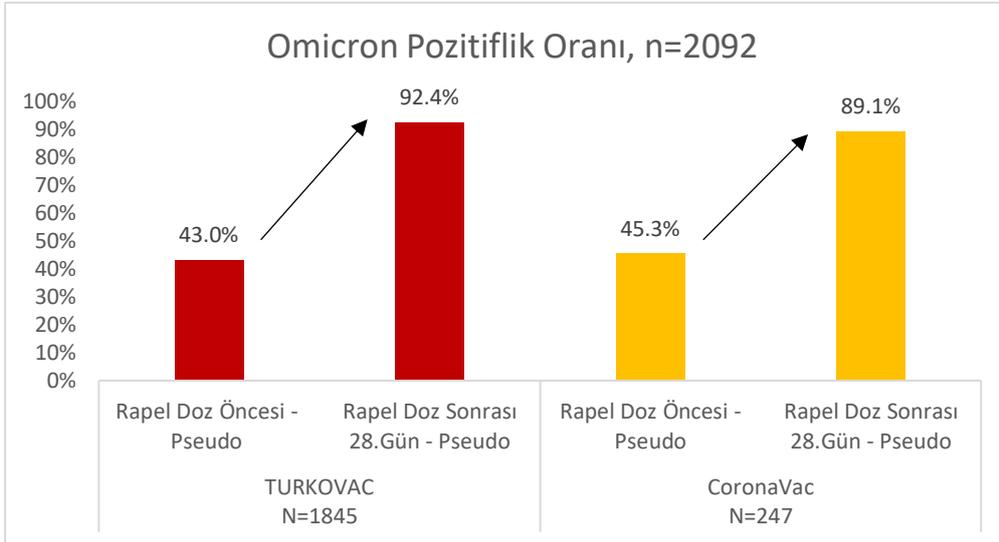




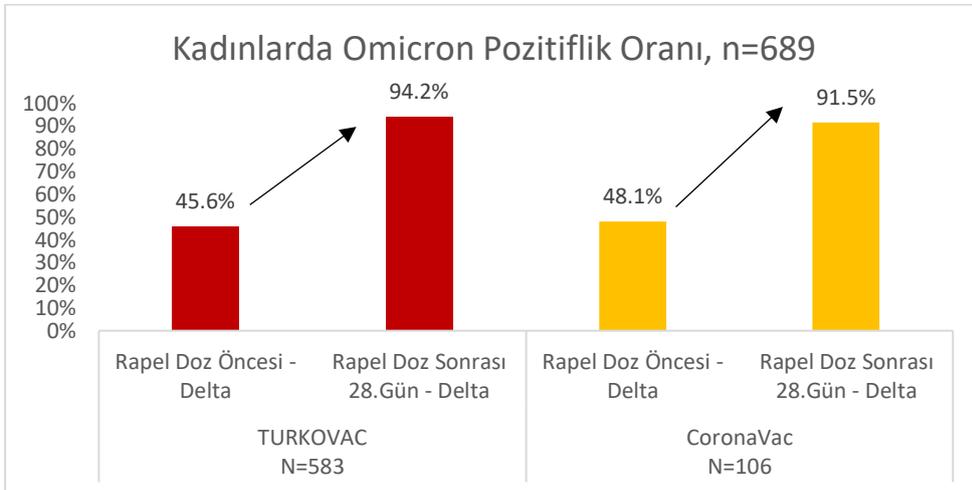
Şekil 7.12 Erkek Gönüllülerde Görülen Delta Pozitiflik Oranı



Şekil 7.13 Tüm Gönüllülerde Görülen Omicron Pozitiflik Oranı

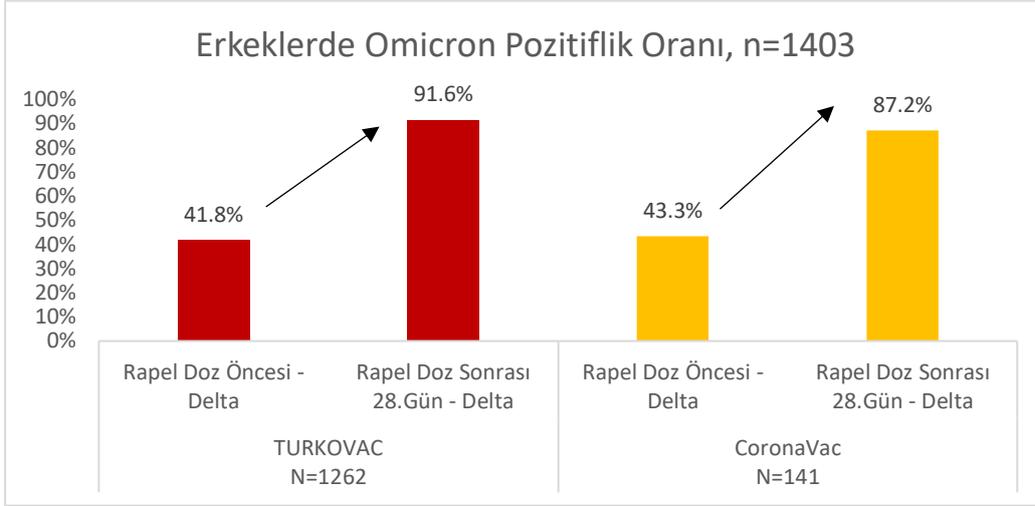


Şekil 7.14 Kadın Gönüllülerde Görülen Omicron Pozitiflik Oranı

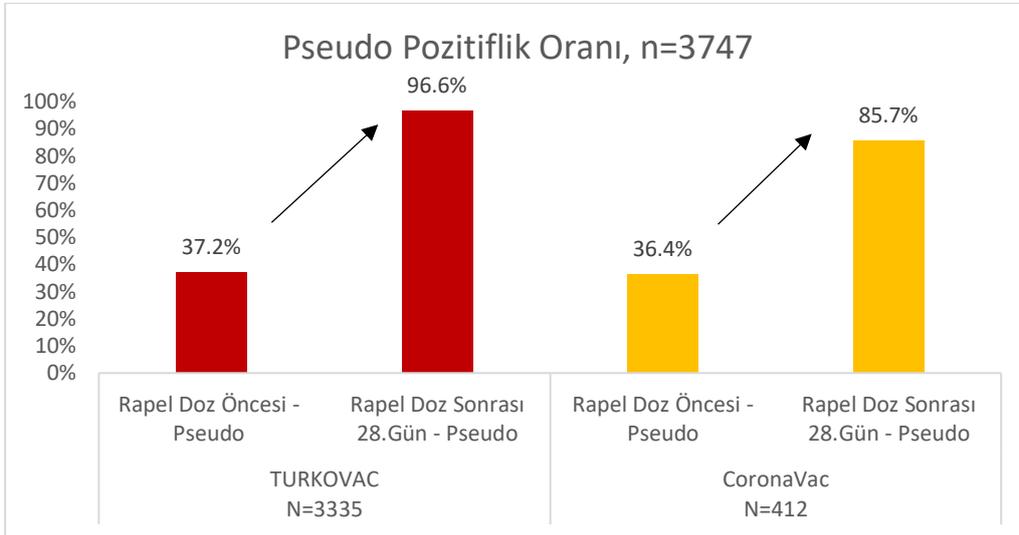




Şekil 7.15 Erkek Gönüllülerde Görülen Omicron Pozitiflik Oranı

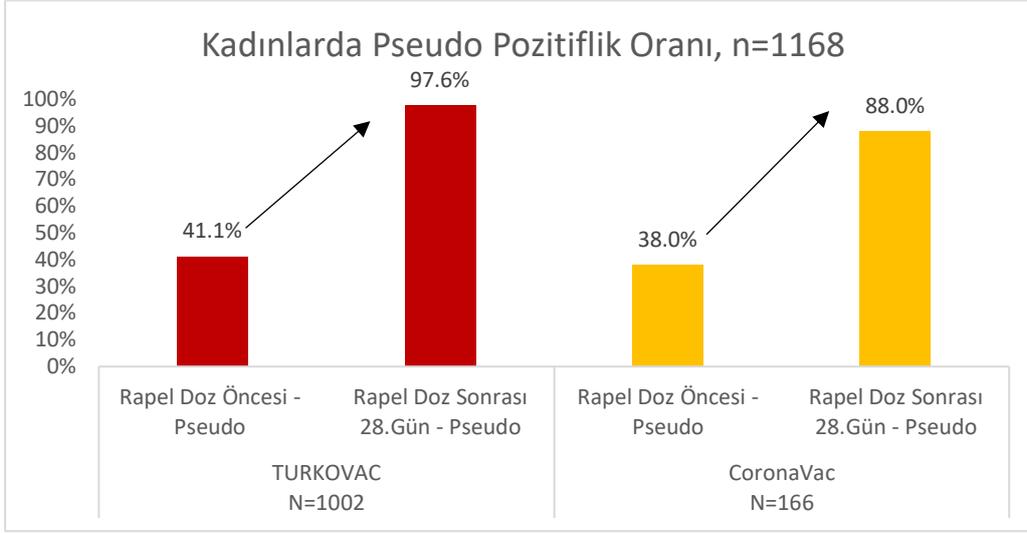


Şekil 7.16 Tüm Gönüllülerde Görülen Pseudonötralizan Pozitiflik Oranı

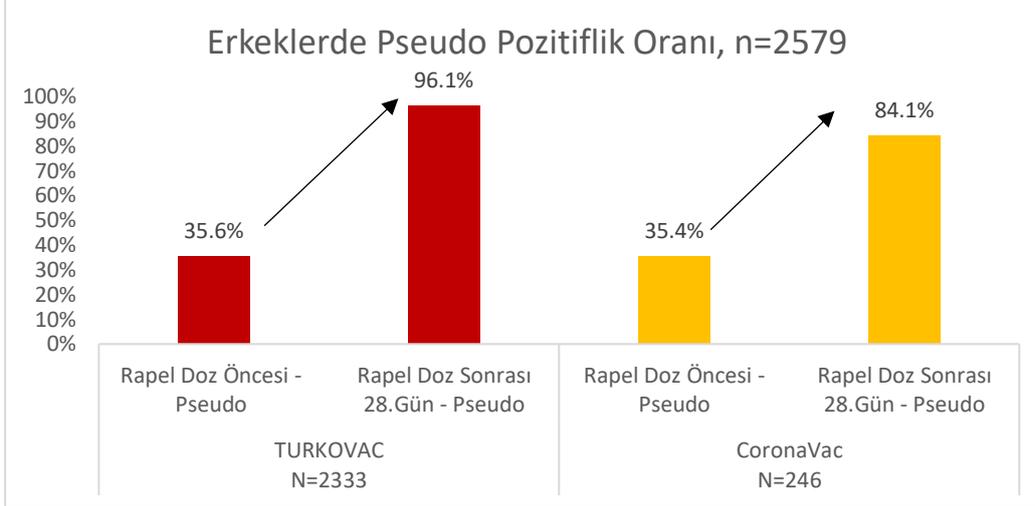




Şekil 7.17 Kadın Gönüllülerde Görülen Pseudonötralizan Pozitiflik Oranı



Şekil 7.18 Erkek Gönüllülerde Görülen Pseudonötralizan Pozitiflik Oranı





VII.VII.II. Güvenlik Sonuçları:

İnaktif Rapel Faz 3 çalışması kapsamında uygulanan aşı kollarına göre bildirilen advers olayların görülme sıklığı ve advers olay görülen gönüllü sayılarının kümülatif olarak yüzdesel dağılımı Tablo'da detayları ile sunulmuştur.

Tablo 7.3 İnaktif Rapel Faz 3 Çalışması Advers Olay Sayıları;

	CoronaVac Kolu (n=485)		TURKOVAC Kolu (n=3.855)		Toplam (n=4.340)	
	Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü
	n	n (%)	n	n (%)	n	n (%)
İlk 30 Dk.	8	6 (1,2)	22	17 (0,4)	30	23 (0,5)
İlk 24 Saat	104	71 (14,6)	876	625 (16,2)	980	696 (16,0)
İlk 3 Gün	188	107 (22,1)	1844	1149 (29,8)	2032	1256 (28,9)
İlk 7 Gün	232	119 (24,5)	2116	1232 (32,0)	2348	1351 (31,1)
İlk 14 Gün	239	122 (25,2)	2249	1268 (32,9)	2488	1390 (32,0)
İlk 1 Ay	287	135 (27,8)	2522	1343 (34,8)	2809	1478 (34,1)
İlk 3 Ay	368	157 (32,4)	3264	1519 (39,4)	3632	1676 (38,6)
İlk 6 Ay	428	169 (34,8)	3660	1587 (41,2)	4088	1756 (40,5)
İlk 1 Yıl	490	182 (37,5)	4023	1629 (42,3)	4513	1811 (41,7)

*CoronaVac kolundaki gönüllü sayısı 485, TURKOVAC kolundaki gönüllü sayısı 3.855, Toplam gönüllü sayısı 4.340.

**Tabloda bildirilen advers olay sayıları kümülatif olarak belirtilmiştir.

*** İlk 30 Dk. içinde bildirilen advers olaylar; ağız kuruluğu, alerjik reaksiyon, aşı bölgesinde ağrı, aşı bölgesinde karıncalanma, aşı bölgesinde kızarıklık, aşı bölgesinde uyuşukluk, aşı bölgesinde yanma hissi, aşı kolunda ağrı, baş ağrısı, baygınlık, bradikardi, çarpıntı, görmede bulanıklık, mide bulantısı, nefes darlığı, sol kulak içinde ağrı olmaktadır.

İnaktif Rapel Faz 3 çalışmasında uygulanan aşı kollarına göre ilk 30 dakika ile ilk 1 yıl arasında bildirilen advers olayların görülme sıklığı ve advers olay görülen gönüllü sayılarının kümülatif olmayan yüzdesel dağılımı Tablo 'da detayları ile sunulmuştur.



Tablo 7.4 İnaktif Rapel Faz 3 Çalışması Advers Olay Sayıları;

	CoronaVac Kolu (n=485)		TURKOVAC Kolu (n=3.855)		Toplam (n=4.340)		p
	Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü	
	n	n (%)	n	n (%)	n	n (%)	
İlk 30 Dk.	8	6 (1,2)	22	17 (0,4)	30	23 (0,5)	0,036
İlk 30 Dk.- İlk 24 Saat	96	66 (13,6)	854	612 (15,9)	950	678 (15,6)	0,195
İlk 24 Saat- İlk 3 Gün	84	48 (9,9)	968	598 (15,5)	1052	646 (14,9)	0,001
İlk 3 Gün- İlk 7 Gün	44	24 (4,9)	272	161 (4,2)	316	185 (4,3)	0,428
İlk 7 Gün- İlk 14 Gün	7	6 (1,2)	133	80 (2,1)	140	86 (2,0)	0,212
İlk 14 Gün- İlk 1 Ay	48	29 (6,0)	273	153 (4,0)	321	182 (4,2)	0,037
İlk 1 Ay- İlk 3 Ay	81	50 (10,3)	742	361 (9,4)	823	411 (9,5)	0,503
İlk 3 Ay- İlk 6 Ay	60	31 (6,4)	396	193 (5,0)	456	224 (5,2)	0,194
İlk 6 Ay- İlk 1 Yıl	62	26 (5,4)	363	177 (4,6)	425	203 (4,7)	0,449

*CoronaVac kolundaki gönüllü sayısı 485, TURKOVAC kolundaki gönüllü sayısı 3.855, Toplam gönüllü sayısı 4.340.

**Tabloda bildirilen advers olay sayıları kümülatif değildir.

İnaktif Rapel Faz 3 çalışmasında uygulanan aşı kollarına göre bildirilen advers olayların lokal ve sistemik gruplara göre görülme sıklığı ve advers olay görülen gönüllü sayılarının kümülatif olarak yüzdesel dağılımı Tablo 'da detayları ile sunulmuştur.



Tablo 7.5 İnaktif Rapel Faz 3 Çalışması Advers Olay Sayıları;

	Corona Vac Kolu (n=485)				TURKOVAC Kolu (n=3.855)				Toplam (n=4.340)	
	Lokal		Sistemik		Lokal		Sistemik		Toplam	
	Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü
	n	n (%)	n	n (%)	n	n (%)	n	n (%)	n	n (%)
İlk 30 Dk.	5	5 (1,0)	3	2 (0,4)	11	10 (0,3)	11	8 (0,2)	30	23 (0,5)
İlk 24 Saat	56	52 (10,7)	48	25 (5,2)	624	542 (14,1)	252	162 (4,2)	980	696 (16,0)
İlk 3 Gün	76	69 (14,2)	112	54 (11,1)	1098	937 (24,3)	746	403 (10,5)	2032	1256 (28,9)
İlk 7 Gün	78	70 (14,4)	154	70 (14,4)	1122	953 (24,7)	994	509 (13,2)	2348	1351 (31,1)
İlk 14 Gün	78	70 (14,4)	161	73 (15,1)	1129	958 (24,9)	1120	557 (14,4)	2488	1390 (32,0)
İlk 1 Ay	78	70 (14,4)	209	92 (19,0)	1140	965 (25,0)	1382	658 (17,1)	2809	1478 (34,1)
İlk 3 Ay	79	70 (14,4)	289	121 (24,9)	1144	967 (25,1)	2120	900 (23,3)	3632	1676 (38,6)
İlk 6 Ay	81	70 (14,4)	347	138 (28,5)	1149	969 (25,1)	2511	998 (25,9)	4088	1756 (40,5)
İlk 1 Yıl	82	70 (14,4)	408	151 (31,1)	1153	970 (25,2)	2870	1063 (27,6)	4513	1811 (41,7)

*CoronaVac kolundaki gönüllü sayısı 485, TURKOVAC kolundaki gönüllü sayısı 3.855, Toplam gönüllü sayısı 4.340.

**Tabloda bildirilen advers olay sayıları kümülatif olarak belirtilmiştir.

*** İlk 30 Dk. içinde bildirilen advers olaylar; ağız kuruluğu, alerjik reaksiyon, aşı bölgesinde ağrı, aşı bölgesinde karıncalanma, aşı bölgesinde kızarıklık, aşı bölgesinde uyuşukluk, aşı bölgesinde yanma hissi, aşı kolunda ağrı, baş ağrısı, baygınlık, bradikardi, çarpıntı, görmede bulanıklık, mide bulantısı, nefes darlığı, sol kulak içinde ağrı olmaktadır.



İnaktif Rapel Faz 3 çalışmasında uygulanan aşı kollarına göre bildirilen advers olayların lokal ve sistemik gruplara göre görülme sıklığı ve advers olay görülen gönüllü sayılarının kümülatif olmayan yüzdesel dağılımı Tablo 'da detayları ile sunulmuştur.

Tablo 7.6 İnaktif Rapel Faz 3 Çalışması Advers Olay Sayıları;

	Lokal					Sistemik					Toplam (n=4.340)	
	CoronaVac Kolu (n=485)		TURKOVAC Kolu (n=3.855)		p	CoronaVac Kolu (n=485)		TURKOVAC Kolu (n=3.855)				
	n	n (%)	n	n (%)		n	n (%)	n	n (%)	p	n	n (%)
İlk 30 Dk.	5	5 (1,0)	11	10 (0,3)	0,019	3	2 (0,4)	11	8 (0,2)	0,30	7	30 (0,5)
İlk 30 Dk. -İlk 24 Saat	5	47 (9,7)	613	533 (13,7)	0,014	45	24 (4,9)	241	155 (4,0)	0,31	5	950 (15,6)
İlk 24 Saat -İlk 3 Gün	2	19 (3,9)	474	410 (10,6)	<0,001	64	33 (6,8)	494	266 (6,8)	0,97	2	105 (14,9)
İlk 3 Gün -İlk 7 Gün	2	2 (0,4)	24	22 (0,6)	1,000	42	22 (4,5)	248	144 (3,7)	0,36	8	316 (4,3)
İlk 7 Gün -İlk 14 Gün	0	0 (0,0)	7	6 (0,2)	1,000	7	6 (1,2)	126	74 (1,9)	0,30	1	140 (2,0)
İlk 14 Gün -İlk 1 Ay	0	0 (0,0)	11	11 (0,3)	0,623	48	29 (6,0)	262	143 (3,7)	0,01	4	321 (4,2)
İlk 1 Ay -İlk 3 Ay	1	1 (0,2)	4	4 (0,1)	0,445	80	49 (10,1)	738	358 (9,2)	0,52	6	823 (9,5)
İlk 3 Ay -İlk 6 Ay	2	1 (0,2)	5	4 (0,1)	0,445	58	30 (6,2)	391	189 (4,9)	0,20	9	456 (5,2)
İlk 6 Ay -İlk 1 Yıl	1	1 (0,2)	4	4 (0,1)	0,445	61	25 (5,2)	359	173 (4,5)	0,48	4	425 (4,7)

*CoronaVac kolundaki gönüllü sayısı 485, TURKOVAC kolundaki gönüllü sayısı 3.855, Toplam gönüllü sayısı 4.340.

**Tabloda bildirilen advers olay sayıları kümülatif değildir.



İnaktif Rapel Faz 3 çalışmasında uygulanan aşı kollarına göre bildirilen ciddi advers olayların görülme sıklığı ve ciddi advers olay görülen gönüllü sayılarının kümülatif olarak yüzdesel dağılımı Tablo'da detayları ile sunulmuştur.

Tablo 7.7 İnaktif Rapel Faz 3 Çalışması Bildirilen Ciddi Advers Olay Sayıları;

	CoronaVac Kolu (n=485)		TURKOVAC Kolu (n=3.855)		Toplam (n=4.340)	
	Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü
	n	n (%)	n	n (%)	n	n (%)
İlk 30 Dk.	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)
İlk 24 Saat	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)
İlk 3 Gün	0	0 (0,0)	1	1 (0,0)	1	1 (0,0)
İlk 7 Gün	0	0 (0,0)	2	2 (0,1)	2	2 (0,0)
İlk 14 Gün	0	0 (0,0)	3	3 (0,1)	3	3 (0,1)
İlk 1 Ay	0	0 (0,0)	6	6 (0,2)	6	6 (0,1)
İlk 3 Ay	1	1 (0,2)	9	9 (0,2)	10	10 (0,2)
İlk 6 Ay	2	2 (0,4)	22	22 (0,6)	24	24 (0,6)
İlk 1 Yıl	3	3 (0,6)	40	38 (1,0)	43	41 (0,9)

*CoronaVac kolundaki gönüllü sayısı 485, TURKOVAC kolundaki gönüllü sayısı 3.855, Toplam gönüllü sayısı 4.340.

**Tabloda bildirilen advers olay sayıları kümülatif olarak belirtilmiştir.

***Bildirilen ciddi advers olaylar arasında; ilk 3 gün içinde COVID-19 (+) nedeniyle hastaneye yatış, ilk 7 gün içinde kıl dönmesi (pilonidal sinüs) ve ilk 14 gün içinde tıkanma ikteri yer almaktadır ve ilgili gönüllüler TURKOVAC kolunda aşılanmışlardır.



İnaktif Rapel Faz 3 çalışmasında uygulanan aşı kollarına göre bildirilen ciddi advers olayların görülme sıklığı ve ciddi advers olay görülen gönüllü sayılarının kümülatif olmayan yüzdesel dağılımı Tablo'da detayları ile sunulmuştur.

Tablo 7.8 İnaktif Rapel Faz 3 Çalışması Bildirilen Ciddi Advers Olay Sayıları;

	CoronaVac Kolu (n=485)		TURKOVAC Kolu (n=3.855)		Toplam (n=4.340)	
	Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü	Olay	Gönüllü
	n	n (%)	n	n (%)	n	n (%)
İlk 30 Dk.	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)
İlk 30 Dk. - İlk 24 Saat	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)
İlk 24 Saat - İlk 3 Gün	0	0 (0,0)	1	1 (0,0)	1	1 (0,0)
İlk 3 Gün - İlk 7 Gün	0	0 (0,0)	1	1 (0,0)	1	1 (0,0)
İlk 7 Gün - İlk 14 Gün	0	0 (0,0)	1	1 (0,0)	1	1 (0,0)
İlk 14 Gün - İlk 1 Ay	0	0 (0,0)	3	3 (0,1)	3	3 (0,1)
İlk 1 Ay - İlk 3 Ay	1	1 (0,2)	3	3 (0,1)	4	4 (0,1)
İlk 3 Ay - İlk 6 Ay	1	1 (0,2)	13	13 (0,3)	14	14 (0,3)
İlk 6 Ay - İlk 1 Yıl	1	1 (0,2)	18	17 (0,4)	19	18 (0,4)

*CoronaVac kolundaki gönüllü sayısı 485, TURKOVAC kolundaki gönüllü sayısı 3.855, Toplam gönüllü sayısı 4.340.

**Tabloda bildirilen advers olay sayıları kümülatif değildir.



İnaktif Rapel Faz 3 çalışmasında uygulanan aşı kollarına göre en sık bildirilen advers olayların lokal ve sistemik gruplara göre sayısal dağılımı Tablo'da detayları ile sunulmuştur.

Tablo 7.9 İnaktif Rapel Faz 3 Çalışması En Sık Bildirilen Advers Olay Sayıları;

	Advers Olay	CoronaVac	TURKOVAC	Toplam
Lokal	Aşı bölgesinde ağrı	22	523	545
	Aşı kolunda ağrı	38	370	408
	Aşı bölgesinde sertlik	15	164	179
	Aşı bölgesinde kızarıklık	4	49	53
	Aşı bölgesinde şişme	0	19	19
Sistemik	Baş ağrısı	55	361	416
	Yorgunluk	39	302	341
	Kas ağrısı	41	296	337
	Boğaz ağrısı	36	270	306
	Öksürük	32	274	306

*CoronaVac kolundaki gönüllü sayısı 485, TURKOVAC kolundaki gönüllü sayısı 3.855, Toplam gönüllü sayısı 4.340.

VII.VII.III Genel Sonuç:

CoronaVac aşısının 2. dozundan sonra en az 90 gün ve en fazla 270 gün geçmiş olanlara verilen inaktif COVID-19 aşısı rapel dozlarının etkinliğini, güvenliğini ve immünojenitesini belirlemeyi amaçlayan İnaktif Rapel Faz 3 çalışmasında güvenlik açısından TURKOVAC ve CoronaVac kollarına ait şimdiye kadar toplanan verilere bakıldığında her iki grupta da güvenliliği tehdit eden herhangi bir bulguya rastlanmamıştır. Sistemik ve lokal advers olaylardan hiçbiri klinik şüphe yaratmamış olup çalışmayı olumsuz etkilememiştir. Bu veriler ışığında çalışma kapsamında kullanılmış olan inaktif COVID-19 aşılarının rapel dozlarının güvenli olduğu görülmüştür. Rapel doz aşılamanın etkililiği açısından da, TURKOVAC ve karşılaştırma ürünü olan CoronaVac kolları arasında belirgin bir farklılık görülmemiştir.

Sonuç olarak, rapel doz olarak uygulanan her iki aşı da kabul edilebilir bir güvenlik profiliyle antikor titrelerinde artışa yol açmıştır.



VIII-TURKOVAC KLİNİK ARAŞTIRMALARI

AZERBAYCAN INT-RAPEL FAZ III



VIII-TURKOVAC KLİNİK ARAŞTIRMALARI- AZERBAJCAN INT-RAPEL FAZ III

VIII.I Çalışma Başlığı:

“SARS-CoV-2'ye Karşı Rapel Aşılamanın Etkililiğini, Güvenliliğini ve İmmünojenitesini Belirlemek için Açık Etiketli, Tek Merkezli, Faz 3 Klinik Çalışma”

VIII.II. Çalışma Kodu:

Protokol kodu: İnaktif_Rapel_Faz(TSB-VAC-COV-TUR-INT-AZ-RF3.02)

VIII.III. Çalışmanın Yapıldığı Merkezler ve Araştırmacı Bilgileri:

VIII.III.I. Koordinatör Merkez:

Azerbaycan Bakü Sağlık Merkez

VIII.III.II. Koordinatör Araştırmacı:

Dr. Nurana Guliyeva

VIII.III.III. Çalışmanın Yapıldığı Diğer Merkezler ve Sorumlu Araştırmacıları:

Çalışma tek merkezde gerçekleştirilmiştir. Sorumlu Araştırmacısı Dr. Nurana Guliyeva

VIII.IV. Çalışmada Kullanılan Ürünler:

İnaktive edilmiş COVID-19 Aşıları (CoronaVac veya TURKOVAC)

VIII.V. Çalışma Dizaynı:

Çalışmaya 2 aşı kolu için 150 (75 TURKOVAC-75 CoronaVac) gönüllü alınması planlanmıştır. Gerekteğinde telefon veya SMS aracılığıyla gönüllülere ulaşılarak çalışmaya davet edileceklerdir.

CoronaVac aşısının ilk kürünün 2. dozundan sonra en az 90 gün ve en fazla 270 gün geçmiş olan gönüllülere rapel doz aşısı (TURKOVAC veya CoronaVac) uygulanacaktır. Aşılama taramadan bir gün sonra yapılabilir.

Gönüllü seçim kriterlerine uyan gönüllülere herhangi bir işlem yapılmadan önce çalışma detaylı anlatılacak ve Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu (BGOF)'nu imzalamaları istenecektir. BGOF'u imzalayan tüm gönüllülere aşı öncesi SARS-CoV-2 PCR testi yapılacak ve pozitif çıkanlarda çalışma dışı bırakılacaktır. Ayrıca kadın gönüllüler için aşı öncesi gebelik testi yapılacaktır.

Her 2 aşı kolu için SARS-CoV-2 nötralizan antikor ve anti-spike protein IgG ölçümü 0, 28, 56, 90 ve 180. günde tekrarlanacaktır. Gönüllüler yan etki değerlendirilmesi için 180. güne kadar izlenecektir. 0, 28, 56, 90 ve 180. günlerdeki çalışma vizitlerinde akut solunum hastalığı (ateşli veya ateşsiz orta veya şiddetli hastalık) ile ateş (ağız sıcaklığı 37,8°C'den yüksek) olan gönüllülerin vizitleri akut durum iyileştikten sonra yapılacaktır. Çalışmada planlanan vizitler dışında meydana gelebilecek herhangi bir durum karşısında gönüllülere planlanmamış vizitler de yapılacaktır.



VIII.V.I. Çalışmanın Amacı:

Birincil Amaç:

CoronaVac aşısının 2. dozundan sonra en az 90 gün ve en fazla 270 gün geçmiş olanlara verilen inaktive edilmiş COVID-19 aşılardan rapel dozlarının etkililiğini değerlendirmek.

İkincil Amaçlar:

Advers reaksiyonların ve ciddi advers olayların insidansını belirleyerek rapel doz aşılardan güvenliğini değerlendirmek.

Rapel doz aşılardan immünojenitesini değerlendirmek.

Rapel dozdan 0, 14, 28, 90 ve 180 SARS-CoV2 spesifik bağlayıcı antikor seropozitiflik oranının belirlenmesi. Rapel dozdan 0, 14, 28, 90 ve 180. günden sonraki nötralizasyon testi ile SARS-CoV2 nötralizasyon edici antikorların değerlendirilmesi.

VIII.V.II. Çalışmanın Süresi:

Araştırma süresi: Toplam Gönüllü temini ile birlikte yaklaşık olarak 15 ay olarak planlanmaktadır.

Etik Komite Onay Tarihi:

TİTCK Onay Tarihi: Geçerli değil

İlk Gönüllü Alım Tarihi (Araştırmanın başlangıcı); 13.06.2022 tarihinde ilk gönüllünün alınmasıyla başladı.

Son Gönüllü Alım Tarihi: Devam ediyor

Sonlanım noktası: Çalışma devam ediyor.

VIII.VI. Çalışma Metodolojisi:

Klinik Araştırmanın Sonuçların Değerlendirmesi Planı / Metodolojisi

Güvenlik, çalışma sırasında bildirilen AO'ların ve CAO'ların sıklığı, insidansı ve doğası ile değerlendirilecektir. Her aşı dozundan sonraki 7 gün içinde telefon görüşmeleri sırasında bildirilen advers olaylar, tüm çalışma merkezleri aktif hale gelene kadar haftalık olarak Etik Kurul'a ve Sağlık Bakanlığı'na rapor edilecektir. Tüm çalışma merkezleri başlatıldıktan sonra, her aşılama dozundan sonraki 7 gün içinde rapor edilen advers olaylar analiz edilecek ve ayda iki kez Etik Kurul'a ve TİTCK'ya rapor edilecektir.

Advers Olay (AO);AO, bir gönüllüde, bir araştırma ürününün (IP) uygulanması sırasında veya sonrasında meydana gelebilecek ve müdahale ile mutlaka nedensel bir ilişkisi olmayan herhangi bir istenmeyen tıbbi olaydır. Bu nedenle bir AO, çalışma müdahalesiyle ilgili olarak kabul edilsin veya edilmesin, çalışma müdahalesiyle geçici olarak ilişkili herhangi bir olumsuz ve istenmeyen işaret (başlangıçtan itibaren klinik olarak anlamlı herhangi bir anormal laboratuvar bulgusu veya değişiklik dahil), semptom veya hastalık olabilir.

Ciddi Advers Olay (CAO);Bir CAO, çalışma müdahalesiyle ilgili olarak kabul edilsin veya edilmesin, aşağıdaki sonuçlardan herhangi biriyle sonuçlanan bir AO'dur.

- Ölüm



- Yaşamı tehdit eden olay (ör: Araştırmacının görüşüne göre gönüllü, meydana gelen olaydan dolayı ani ölüm riski altında olması).
- Kalıcı veya önemli sakatlık veya yetersizlik (ör: Kişinin normal yaşam işlevlerini yerine getirme yeteneğinde önemli ölçüde bozulma).
- Sürekli gözlem için bir ihtiyati tedbir olsa bile, kalış süresine bakılmaksızın hastaneye yatış veya mevcut hastanede kalış süresinin uzatılması. Beklenmedik bir şekilde kötüleşmeyen önceden var olan bir durum için hastaneye yatış (elektif bir prosedür için yatarak veya ayaktan hastaneye yatış dahil) ciddi bir AO oluşturmaz.
- Uygun tıbbi hükme dayanarak gönüllüyü tehlikeye atabilecek ve/veya yukarıda listelenen sonuçlardan birini önlemek için tıbbi veya cerrahi müdahale gerektirebilecek önemli bir tıbbi olay (ölüme neden olmayabilecek, yaşamı tehdit etmeyebilir veya hastaneye yatmayı gerektirebilir). Bu tür tıbbi olaylara örnek olarak, bir acil serviste veya klinikte yoğun tedavi gerektiren alerjik reaksiyon, kan diskrazileri veya yatarak hastaneye yatışla sonuçlanmayan konvülsiyonlar yer alır.
- Konjenital anomali veya doğum kusuru.

Ciddi Advers Reaksiyon (CAR); Hem ciddi hem de raporlayan araştırmacı veya destekleyicinin görüşüne göre, sağlanan bilgilere dayalı olarak muhtemel, muhtemel veya kesinlikle bir araştırma ürünü veya diğer çalışma tedavilerinden kaynaklandığına inanılan bir AO.

Nedensellik; Her AO için, olayın aşının uygulanmasıyla ilişkisinin değerlendirilmesi araştırma ekibi tarafından yapılacaktır. Söz konusu AO'ya yapılan müdahalenin nedensel ilişkisinin yorumu, olayın türüne göre yapılacaktır; olayın aşı uygulama zamanı ile ilişkisi; ve aşı tedavisinin bilinen biyolojisi. Önceden var olan tıbbi durumların doğal seyri, eşzamanlı tedavi, diğer risk faktörleri ve olayın aşı ile geçici ilişkisi gibi AO'nun alternatif nedenleri değerlendirilecek ve araştırılacaktır. Nedensellik değerlendirmesi, raporlayan araştırmacı tarafından atanması gereken CAO'lar hariç, planlı güvenlik incelemeleri sırasında ve nihai güvenlik analizinde, olaydan 24 saat haberdar olarak derhal yapılacaktır.

Tüm Advers Olaylar İçin Raporlama Prosedürleri; Her aşılamaı takiben tüm yerel ve sistemik AO'lar araştırmacı tarafından gözlemlenecek veya gönüllüler tarafından rapor edilecek, çalışma aşısı ile ilişkisi olup olmadığına bakılmaksızın, çalışma süresi boyunca CRF, günlükler ve elektronik çalışma veritabanına kaydedilecektir. Bir gönüllünün çalışmadan çekilmesiyle sonuçlanan tüm AO'lar, uygun bir çözüm bulununcaya kadar takip edilecektir. CAO'lar tüm çalışma süresi boyunca toplanacaktır.

Şiddetin Değerlendirilmesi; Klinik advers olayların şiddeti, aşağıdaki tablolarda gösterildiği gibi, aşı klinik deneyleri için FDA toksisite derecelendirme ölçeklerine dayalı ölçeklere göre değerlendirilecektir.

CAO'lar için Raporlama Prosedürleri; Herhangi bir CAO, araştırma ürünüyle varsayılan ilişkiden bağımsız olarak, araştırmacının olayla ilgili ilk bilgisini aldıktan sonraki 24 saat içinde Veri ve Güvenlik İzleme Kuruluna (VGİK), Etik Kurul'a, Sağlık Bakanlığı'na, destekleyiciye ve klinik çalışma monitörüne bildirilmelidir. Araştırmacı veya yetkili kişi CAO Rapor Formunu doldurmalı, imzalamalı ve doldurulmuş formu VGİK'ye, çalışma destekleyicisine ve klinik çalışma monitörüne iletmelidir. CAO'ların ilk raporları faks veya e-posta yoluyla bildirilebilir. Telefonla yapılan ilk raporlar bildirimden sonraki 24 saat içinde



araştırmacı veya nitelikli bir alt araştırmacı tarafından (fiziksel veya elektronik) imzalanan belgelerin (kağıt veya elektronik) iletilmesiyle desteklenmelidir. Ek takip bilgileri mevcut olduğunda, bir takip CAO raporu (nitelikli olaya bağlı olarak) doldurulmalı, araştırmacı veya nitelikli bir alt araştırmacı tarafından imzalanmalı ve mümkün olan en kısa sürede iletilmelidir. Araştırmacı, yatan hasta ve ayakta tedavi kayıtları, laboratuvar raporları ve otopsi veya tıbbi muayene raporları dahil olmak üzere tüm CAO raporları için ayrıntılı bilgi edinmekten sorumludur.

Çalışma Ürünlerindeki Endotoksin Düzeyleriyle İlgili Advers Olaylar; Çalışma aşılarında endotoksin düzeyleri ile ilgili olabilecek güvenlik verilerinin takip edilebilmesi için endotoksinin etkisi ile ortaya çıkabilecek klinik durumlar göz önünde bulundurularak aşağıdaki advers olayların ayrı ayrı izlenmesi ve raporlanması planlanmaktadır. Lokal advers olaylar (artan reaktogenite ile ilişkili olabileceğinden her iki koldaki tüm lokal advers olaylar)

Aşağıda açıklanan Sistemik Advers Olaylar:

- Ateş
- Titreme
- Hipotansiyon
- Genel vücut ağrısı
- Genel kas zayıflığı
- Trombotik olaylar
 - Aşağıda açıklanan Ciddi Advers olaylar:
- Sepsis
- Şok
- Çoklu organ yetmezliği
- Akut böbrek yetmezliği
- Akut solunum yetmezliği/akut solunum sıkıntısı sendromu
- Akut karaciğer yetmezliği

Çalışmada Advers Olay Olarak Gözlenen Göğüs Ağrısı ve Dispne Tedavisi; Çalışma kapsamında hazırlanan akış şeması , göğüs ağrısı ve nefes darlığının nasıl yönetileceğini tanımlar ve çalışma kapsamında advers olay olarak raporlanır.

Çalışmada Advers Olay Olarak Gözlenen Anafilaksi Yönetimi; Çalışma kapsamında hazırlanan akış şeması, anafilaksin nasıl yönetileceğini tanımlar ve çalışma kapsamında advers olay olarak raporlanır.

VIII.VI. I. Etkinlik:

Değerlendirme Kriterleri;

Birincil Değerlendirme Kriterleri:

Rapel aşılama dozundan en az 14 gün sonra RT-PCR ile doğrulanmış semptomatik COVID-19'a karşı TURKOVAC ve CoronaVac aşılarının koruyuculuk oranları.

İkincil Değerlendirme Kriterleri:

Tüm gönüllülerde aşılama sonrası 7-14. gün içinde advers reaksiyon insidansı (Telefon görüşmesi).



Tüm gönüllülerde aşılardan sonraki 180. güne kadar Ciddi Advers Olayların (CAO) insidansı. Gönüllülerde 0, 14±2 (tüm gönüllülerden), ve 28±4, 90±4 ve 180±8 günlerdeki SARS-CoV2 nötralizan antikor miktarında SARS-CoV2 anti-spike protein IgG miktarında (nükleokapsit) başlangıca göre 28. günde artışın 2 kat ve üzeri olması.

VIII.VI.II. Güvenlik:

İstatistik analiz planı;

İstatistiksel analiz için PASW 18.0 for Windows programı kullanılacaktır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi p değerinin 0,05'ten küçük olması durumu olarak kabul edilecektir. Tanımlayıcı istatistikler, kategorik değişkenler için sayı ve yüzdelere, sayısal değişkenler için ortalama, standart sapma, ortanca, minimum, maksimum, persentil 25, persentil 75 olarak sunulacaktır. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu görsel (histogram ve olasılık grafikleri) ve analitik yöntemler (Kolmogorov-Smirnov/Shapiro-Wilk testleri) kullanılarak incelenecektir. Esas olarak güvenilirlik parametrelerini tanımlama ve değerlendirmeyi ve daha önceden tanımlanmış istatistiksel hipotezlerle test etmeden daha çok rutin klinik uygulamada güvenilirliğini belirlemeyi amaçlamaktadır. Birincil değerlendirme kriterleri için, TURKOVAC ile CoronaVac arasındaki karşılaştırmalar tanımlayıcı istatistiklerle özetlenecek ve uygun testlerle analizler yapılacaktır. Risk azaltma yüzdesi ile aşı etkinliği hesaplaması. İkincil değerlendirme kriterleri için, aşılardan sonraki 7 gün içinde advers ilaç reaksiyon insidansı ve aşılardan sonraki 168. güne kadar Ciddi Advers Olayların (CAO) insidansı aşı gruplarında ayrı ayrı sunulmak üzere tanımlayıcı istatistik olarak özetlenecektir. Ayrıca gönüllülerde 0, 28, 84 ve 168. günlerdeki SARS-CoV2 nötralizan antikor miktarı ve SARS-CoV2 anti-spike protein IgG miktarı tanımlayıcı olarak sunulacaktır. SARS-CoV2 nötralizan antikor miktarı ve SARS-CoV2 anti-spike protein IgG miktarında başlangıca göre 28. Günde artışın 2 kat ve üzeri olan gönüllü oranları hesaplanacak ve aşı kolları arasında Ki-Kare koşulu sağlandığı durumda Ki-Kare testi, sağlanmadığı durumda ise Fisher Exact test kullanılarak incelenecektir.

VIII.VII. Sonuçlar:

Çalışmada henüz bir gönüllü vardır, ara değerlendirme henüz yapılmamıştır.

VIII.VII. I. Etkinlik Sonuçları:

Çalışmada henüz bir gönüllü vardır, etkinlik ara değerlendirmesi henüz yapılmamıştır.

VIII.VII.II. Güvenlik Sonuçları:

Çalışmada henüz bir gönüllü vardır, güvenlik ara değerlendirme henüz yapılmamıştır. (Gönüllü tarafından bildirilen advers olay ve ciddi advers olay yoktur.)

VIII.VII.III Genel Sonuç:

Çalışma devam etmektedir. Çalışma finalize olunca sonuçlar paylaşılacaktır.



IX-TURKOVAC- GÖZLEMSEL ÇALIŞMALAR



IX.I-TURKOVAC GÖZLEMSEL ÇALIŞMALAR- BİR DOZ SONRASI TELEFON ANKETİ

IX.I.I Çalışma Başlığı:

“Bir doz Doz İnaktif SARS-CoV-2 Aşısı (TURKOVAC) Sonrası Katılımcılar Tarafından Bildirilen İstenmeyen Etkilerin Telefon Anketi Çalışması ile Değerlendirilmesi”

IX.I.II Çalışmanın Yapıldığı Merkezler ve Araştırmacı Bilgileri:

IX.I.II.I. Koordinatör Merkez:

TÜSEB-TAE ve Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü

IX.I.II.II. Koordinatör Araştırmacı:

Prof. Dr. Ateş Kara

IX.I.II.III. Çalışmanın Yapıldığı Diğer Merkezler ve Sorumlu Araştırmacıları:

Türkiye’de, Sağlık Bakanlığı’na bağlı 17 ilde yer alan toplam 22 hastanede çalışma yapılmıştır.

IX.I.III Çalışma Amacı:

TURKOVAC aşısının Türkiye’de, 17 ilde yer alan, Sağlık Bakanlığı’na bağlı olan toplam 22 hastanede uygulanması sonrasında katılımcılar tarafından bildirilen istenmeyen etkilerin dağılımını ve bazı özelliklerini değerlendirmek amacıyla yapılan kohort bir çalışmadır.

IX.I.IV Çalışmanın Süresi:

Ocak-Mayıs 2022 tarihleri arasında yapılmıştır.

IX.I.V Çalışma Metodolojisi:

Bu kohort çalışmada, 10 Ocak-18 Şubat 2022 tarihleri arasında, TURKOVAC aşısının ilk dozunun uygulandığı 20.000 kişilik bir örnek grubuna birinci dozun üçüncü (10-17 Ocak) ve yedinci (7-18 Şubat) günlerinde telefonla aranarak yapılandırılmış bir anket algoritması sözel olarak uygulanmıştır. Bu anket, sırasıyla lokal ve sistemik istenmeyen etkilerin sorgulandığı iki ana bölümden oluşmaktadır. Ek olarak katılımcılar tarafından belirtilmiş olan diğer istenmeyen etkiler de kaydedilmiştir. Birinci dozu takiben, üçüncü günde 6023 kişi, yedinci günde ise 5345 kişi telefon anketine katılmayı kabul etmiştir.

IX.I.VI Sonuçlar:

IX.I.VI.I Bulgular:

TURKOVAC aşısının ilk dozunu takiben; katılımcıların %36,6’sı üçüncü günde, %22,5’i ise yedinci günde herhangi bir istenmeyen etki bildirmiştir.

En sık bildirilen istenmeyen etkiler aşının uygulandığı bölgede yer alan lokal etkilerdir (üçüncü günde %29,7, yedinci günde %13,1). Lokal istenmeyen etkiler arasında ise en sık bildirilen



aşının uygulandığı bölgede ağrı (üçüncü günde %27,9, yedinci günde %12,4), sertlik (üçüncü günde %4,8, yedinci günde %2,7) ve şişlik (üçüncü günde %3,5, yedinci günde %2,0) olmuştur.

Halsizlik/yorgunluk (üçüncü günde %9,6, yedinci günde %8,3) ve baş ağrısı (üçüncü günde %7,9, yedinci günde %8,0) ise en sık bildirilen sistemik istenmeyen etkilerdir.

Genç yaş grubunda yer alma, aşının kaçınıcı doz olarak uygulandığı ve kadın cinsiyete sahip olma değişkenleri, herhangi bir istenmeyen etki bildirimini ve aşının uygulandığı bölgede ağrı ile ilişkili olarak saptanmıştır. Kadın cinsiyete sahip olma ise aşının uygulandığı bölgede artmış ağrı, şişlik, ateş ve günlük hayatı etkileme durumu ile ilişkili bulunmuştur.

IX.I.VI.II Genel Sonuçlar:

Bu çalışmada, TURKOVAC aşısının birinci dozu sonrasında bildirilen istenmeyen etkilerin hızlı bir değerlendirilmesi yapılmıştır. Aşının ilk dozunu takiben ilk 7 gün içerisinde iyi bir güvenlik profiline sahip olduğu görülmüştür. Bu bulguların toplum ve sağlık çalışanları için değerli bilgi olduğu ve aşuya karşı güven artışına katkı sağlayacağı düşünülmektedir.



IX.II-TURKOVAC GÖZLEMSEL ÇALIŞMALAR- İKİ DOZ SONRASI TELEFON ANKETİ

IX.II.I Çalışma Başlığı:

“İki Doz İnaktif SARS-CoV-2 Aşısı (TURKOVAC) Sonrası Katılımcılar Tarafından Bildirilen İstenmeyen Etkilerin Telefon Anketi Çalışması ile Değerlendirilmesi”

IX.II.II Çalışmanın Yapıldığı Merkezler ve Araştırmacı Bilgileri:

IX.II.II. I. Koordinatör Merkez:

TÜSEB-TAE ve Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü

IX.II.II.II. Koordinatör Araştırmacı:

Prof. Dr. Ateş Kara

IX.II.II.III. Çalışmanın Yapıldığı Diğer Merkezler ve Sorumlu Araştırmacıları:

Türkiye’de, Sağlık Bakanlığı’na bağlı 17 ilde yer alan toplam 22 hastanede çalışma yapılmıştır.

IX.II.III Çalışma Amacı:

TURKOVAC aşısının Türkiye’de, 17 ilde yer alan, Sağlık Bakanlığı’na bağlı olan toplam 22 hastanede uygulanması sonrasında katılımcılar tarafından bildirilen istenmeyen etkilerin dağılımını ve bazı özelliklerini değerlendirmek amacıyla yapılan kohort bir çalışmadır.

IX.II.IV Çalışmanın Süresi:

Ocak-Mayıs 2022 tarihleri arasında yapılmıştır.

IX.II.V Çalışma Metodolojisi:

Bu kohort çalışmasında, 10 Ocak-18 Şubat 2022 tarihleri arasında, TURKOVAC aşısının uygulandığı 20.000 kişilik bir örnek grubuna birinci ve ikinci dozun üçüncü (10-17 Ocak) ve yedinci (7-18 Şubat) günlerinde telefonla aranarak yapılandırılmış bir anket algoritması sözel olarak uygulanmıştır. Bu anket, sırasıyla lokal ve sistemik istenmeyen etkilerin sorgulandığı iki ana bölümden oluşmaktadır. Ek olarak katılımcılar tarafından belirtilmiş olan diğer istenmeyen etkiler de kaydedilmiştir. Birinci dozu takiben, üçüncü günde 6023 kişi, yedinci günde ise 5345 kişi telefon anketine katılmayı kabul etmiştir. İkinci doz sonrasında ise her iki günde de 6501 kişi çalışmaya katılmıştır.

IX.II.VI Sonuçlar:

IX.II.VI.I Bulgular:

TURKOVAC aşısının ilk dozunu takiben; katılımcıların %36,6’sı üçüncü günde, %22,5’i ise yedinci günde herhangi bir istenmeyen etki bildirmiştir. Aşının ikinci dozunu takiben herhangi bir istenmeyen etki bildirenlerin yüzdesi de benzer olup üçüncü ve yedinci günler için sırasıyla %35,7 ve %21,9’dur.



Her iki doz için de en sık bildirilen istenmeyen etkiler aşının uygulandığı bölgede yer alan lokal etkilerdir (üçüncü günde birinci ve ikinci doz için sırasıyla %29,7 ve %29,0, yedinci günde birinci ve ikinci doz için sırasıyla %13,1 ve %13,6). Lokal istenmeyen etkiler arasında ise en sık bildirilen aşının uygulandığı bölgede ağrı (üçüncü günde birinci ve ikinci doz için sırasıyla %27,9 ve %28,6, yedinci günde birinci ve ikinci doz için sırasıyla %12,4 ve %13,4), sertlik (üçüncü günde birinci ve ikinci doz için sırasıyla %4,8 ve %3,4, yedinci günde birinci ve ikinci doz için sırasıyla %2,7 ve %2,1) ve şişlik (üçüncü günde birinci ve ikinci doz için sırasıyla %3,5 ve %2,7, yedinci günde birinci ve ikinci doz için sırasıyla %2,0 ve %1,8) olmuştur.

Halsizlik/yorgunluk (üçüncü günde birinci ve ikinci doz için sırasıyla %9,6 ve %8,9, yedinci günde birinci ve ikinci doz için sırasıyla %8,3 ve %8,4) ve baş ağrısı (üçüncü günde birinci ve ikinci doz için sırasıyla %7,9 ve %7,2, yedinci günde birinci ve ikinci doz için sırasıyla %8,0 ve %7,1) ise en sık bildirilen sistemik istenmeyen etkilerdir.

Her iki doz için de genç yaş grubunda yer alma, aşının kaçınıcı doz olarak uygulandığı ve kadın cinsiyete sahip olma değişkenleri, herhangi bir istenmeyen etki bildirim ve aşının uygulandığı bölgede ağrı ile ilişkili olarak saptanmıştır. Kadın cinsiyete sahip olma ise aşının uygulandığı bölgede artmış ağrı, şişlik, ateş ve günlük hayatı etkileme durumu ile ilişkili bulunmuştur.

IX.II.VI.II Genel Sonuçlar:

Bu çalışmada, TURKOVAC aşısının her bir dozu sonrasında bildirilen istenmeyen etkilerin hızlı bir değerlendirilmesi yapılmıştır. Aşının her iki dozu için de aşılamaı takiben ilk 7 gün içerisinde iyi bir güvenlik profiline sahip olduğu görülmüştür. Bu bulguların toplum ve sağlık çalışanları için değerli bilgi olduğu ve aşıya karşı güven artışına katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

EK-6: ECCMID Poster “Assessment of participant-reported adverse events following the two doses of inactivated SARS-CoV-2 vaccine through a telephone survey in Türkiye”



IX.I-TURKOVAC GÖZLEMSEL ÇALIŞMALAR- ALERJİ ÇALIŞMASI

IX.I.I Çalışma Başlığı:

“İnaktif SARS-CoV-2 Aşısını (TURKOVAC™) Takiben Kişisel Bildirime Dayalı Alerjik İstenmeyen Etkilerin Genel ve Yüksek Riskli Popülasyonda Değerlendirilmesi”

IX.I.II Çalışmanın Yapıldığı Merkezler ve Araştırmacı Bilgileri:

IX.I.II.I. Koordinatör Merkez:

TÜSEB-TAE ve Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü

IX.I.II.II. Koordinatör Araştırmacı:

Prof. Dr. Ateş Kara

IX.I.II.III. Çalışmanın Yapıldığı Diğer Merkezler ve Sorumlu Araştırmacıları:

15 ilde bulunan İl Sağlık Müdürlüklerine bağlı İlçe Sağlık Müdürlüklerin de çalışma yapıldı bu iller; Konya, Trabzon, Kayseri, Elâzığ, Eskişehir, Yozgat, Mersin, İzmir, Isparta, Kahramanmaraş, Bursa, Erzurum, Manisa, Balıkesir, Tekirdağ

IX.I.III Çalışma Amacı:

Türkiye’de 15 ilde aşının primer seri dozu veya pekiştirme dozu olarak uygulanması sonrasında yaşanan alerjik istenmeyen etkilerin dağılımını ve ciddiyetini değerlendirmektir.

IX.I.IV Çalışmanın Süresi:

Şubat-Mayıs 2022 tarihleri arasında yapılmıştır.

IX.I.V Çalışma Metodolojisi:

Şubat-Mayıs 2022 tarihleri arasında, toplum sağlığı merkezlerinde çalışmayı yürütebilecek yeterli sayıda personeli bulunan seçilmiş 15 ilde, aşının birinci, ikinci ya da pekiştirme dozu uygulanmış olan 32.300 kişi çalışmaya davet edilmiştir. Çalışmaya gönüllü olarak katılmayı kabul eden 29.584 kişiye aşının uygulanmasını takiben en az 10 gün sonra olacak şekilde yapılandırılmış bir anket uygulanmıştır.

IX.I.VI Sonuçlar:

Çalışmada, katılımcıların sadece %0,5’i (142 kişi) aşı sonrasında herhangi bir alerjik reaksiyon yaşadığını bildirmiş olup bunların %8,5’i (12 kişi) kendilerine bir sağlık merkezinde tedavi verildiğini ifade etmiştir. Herhangi bir alerjik reaksiyon yaşadığını bildiren katılımcılar arasında erkek hakimiyeti (%55,6) gözlenmiştir. Herhangi bir alerjik reaksiyon yaşadığını bildiren katılımcılar arasında hastaneye yatış bildirilmemiştir. Katılımcıların %4,4’ü (1315 kişi) aşı



uygulanması öncesinde alerji hikayesi olduğunu beyan etmiştir. En çok beyan edilen alerjenler ilaçlardır.

Daha öncesinde bilinen bir alerji hikayesi olmayan katılımcılar (n=28.269) arasında 110 kişi (%0,4), aşının uygulanmasını takiben alerjik bir reaksiyon yaşamış olduğunu bildirmiş olup bu kişilerin 6'sı (%5,4) ise bir sağlık merkezinde tedavi aldığını beyan etmiştir. Daha öncesinde bilinen bir alerji hikayesi olmayan katılımcılar arasında herhangi bir tıbbi tedavi almış olma yüzdesi %0,02 olarak saptanmıştır.

Daha öncesinde bilinen bir alerji hikayesi olan katılımcılar (n=1315) arasında 32 kişi (%2,4), aşının uygulanmasını takiben alerjik bir reaksiyon yaşamış olduğunu bildirmiş olup bu kişilerin 6'sı (%18,7) ise bir sağlık merkezinde tedavi aldığını beyan etmiştir. Daha öncesinde bilinen bir alerji hikayesi olan katılımcılar arasında herhangi bir tıbbi tedavi almış olma yüzdesi %0,4 olarak saptanmıştır.

Katılımcılar tarafından, aşının uygulanmasını takiben; ani gelişen ya da anafilaktik bir reaksiyon bildirilmemiştir.

Çalışmada, bilinen alerji hikayesinin, aşının uygulanmasını takiben kişisel beyana dayalı alerjik reaksiyon gelişme riskini yaklaşık 6 kez arttırdığı saptanmıştır.

EK-7: Genel ve yüksek riskli popülasyonlarla yapılan TURKOVAC AŞISI “*Self-Reported Allergic Adverse Events Following Inactivated SARS-CoV-2 Vaccine (TURKOVAC™) among General and High-Risk Population*”



X-EKLER



X: EK.1

Prof. Dr. Aykut Özdarendeli Makale “Isolation and characterization of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 in Turkey”

PLOS ONE

RESEARCH ARTICLE

Isolation and characterization of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 in Turkey

Shahkhalik Terkiz Isikim Pavel^{1,2}, Hazel Yattiskin^{1,2}, Günsu Aydın^{1,2}, Can Halyavkin³, Muhammet Ali Uygut², Zehra Bastepe Dursun⁴, İbrahim Celik⁴, Çeren Cevik², Aykut Özdarendeli^{1,2*}

1 Department of Microbiology, Medical Faculty, Erzyas University, Kars, Turkey, **2** Vaccine Research, Development and Application Center, Erzyas University, Kars, Turkey, **3** Gen Era Diagnostics Inc. Barbaros, İstanbul, Turkey, **4** Department of Microbiology and Infectious Disease, Karsiyer City Training and Research Hospital, Karsiyer, Turkey

* aykut.ozdarendeli@erzyas.edu.tr



Abstract

Coronavirus disease 2019 (COVID-19) caused by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and associated with severe respiratory illness emerged in Wuhan, China, in late 2019. The virus has been able to spread promptly across all continents in the world. The current pandemic has posed a great threat to public health concern and safety. Currently, there are no specific treatments or licensed vaccines available for COVID-19. We isolated SARS-CoV-2 from the nasopharyngeal sample of a patient in Turkey with confirmed COVID-19. We determined that the Vero E6 and MA-104 cell lines are suitable for supporting SARS-CoV-2 that supports viral replication, development of cytopathic effect (CPE) and subsequent cell death. Phylogenetic analyses of the whole genome sequences showed that the hCoV-19/Turkey/ERAGEM-001/2020 strain clustered with the strains primarily from Australia, Canada, England, Iran and Kuwait and that the cases in the nearby clusters were reported to have travel history to Iran and to share the common unique nucleotide substitutions.

Introduction

Coronaviruses (CoVs) are members of the family Coronaviridae, which consists of a group of enveloped, positive-sense, single-stranded RNA viruses [1]. Transcription of coronaviruses requires a polymerase template switch, characterized as a discontinuous process unique among RNA viruses [2–4]. Based on the difference in protein sequences, CoVs are classified into four genera, alpha-CoV, beta-CoV, gamma-CoV, and delta-CoV [1, 2, 5]. There are hundreds of coronaviruses circulating broadly among mammals and birds that cause respiratory, enteric, hepatic, and neurologic diseases [1, 6, 7].

Until recently, six coronavirus species have been known to cause disease in humans. The 229E, OC43, NL63 and HKU1 viruses are prevalent and cause mild illness, such as the common cold [1, 8]. However, the other two viruses have been considered highly pathogenic in humans, and cause the diseases SARS (severe acute respiratory syndrome), which resulted

OPEN ACCESS

Citation: Pavel ST, Yattiskin H, Aydın G, Halyavkin C, Uygut MA, Dursun Z, et al. (2020) Isolation and characterization of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 in Turkey. *PLOS ONE* 15(9): e0238614. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238614>

Editor: Kai Li, University of Tennessee Health Science Center, UNITED STATES

Received: May 5, 2020

Accepted: August 20, 2020

Published: September 16, 2020

Copyright: © 2020 Pavel et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: All relevant data are within the manuscript.

Funding: The present study was financially supported by Health Institutes of Turkey (TÜSİEB) (Project No: 2020-AG/A/Ga/D-712) and Erzyas University Scientific Research Foundation (Project No: TSG-2019-0644). Gen Era Diagnostics Inc. provided support in the form of salaries for authors [OH and CC], but did not have any additional role in the study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the



manuscript. The specific roles of these authors are articulated in the 'author contributions' section.

Competing interests: Gan En Diagnostics Inc. provided support in the form of salaries for authors [GH and CC], but did not have any additional role in the study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript. This does not alter our adherence to PLOS ONE policies on sharing data and materials.

from an outbreak in 2002 and disappeared by 2004, and MERS (Middle East respiratory syndrome), which emerged in 2012 and continues to circulate in the Middle East [2–13]. At the end of 2019, severe pneumonia cases of unknown etiology were reported in Wuhan, a city in the Hubei province of China [14–15]. Sequencing analysis revealed that this unidentified pneumonia was considered to be caused by a novel coronavirus [14, 16]. The World Health Organization (WHO) termed the disease as coronavirus disease-2019 (COVID-19) on February 11, 2020 [17]. On the same day, the International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) named this novel coronavirus as severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). SARS-CoV-2 has become the seventh coronavirus that known to infect humans.

Even though the first cases had a contact history with the Huanan Seafood Market the studies have clearly showed that SARS-CoV-2 can be transmitted by person-to-person and frequently cause asymptomatic infections. With transmission of the virus possible before the onset of clinical signs, the COVID-19 outbreak has quickly expanded to worldwide [18–20]. It was declared a pandemic by the WHO on March 11, 2020. As of August 18, 2020, a total of 21,756,357 confirmed cases of COVID-19 and 771,635 deaths have been reported in more than 200 countries and territories. (<https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/situation-reports/>). The first case of COVID-19 in Turkey was confirmed on March 11 2020. As of August 18, 2020, there have been 251,805 cases and 6,016 deaths (The Ministry of Health, Turkey).

In this study, we report the isolation of the hCoV-19/Turkey/ERAGEM-001/2020 strain from a patient in Turkey with confirmed COVID-19. The whole genomic sequence and replication characteristics of the hCoV-19/Turkey/ERAGEM-001/2020 strain are described. This is the first known report of the isolation and characterization of SARS-CoV-2 from a human clinical sample in Turkey. The successful isolation and characterization of the virus will be essential for continued investigations of SARS-CoV-2 pathogenicity and will provide valuable information for vaccine design and drug target.

Materials and methods

Ethics statement

This study protocol was approved by the Kayseri Training and Research Hospital ethics committee (2020-3-/23), which allowed sampling for diagnostic and surveillance purposes. A written informed consent was obtained from the patient for being included in the study.

Cells

All cell lines used in this study purchased from ATCC cell culture company. African monkey green kidney cells (Vero B6, ATCC CRL-1586), rhesus monkey kidney cells (MA-104, ATCC CRL-2378), human adrenal carcinoma cells (SW-13, ATCC CCL-105) and human cervical adenocarcinoma cells (HeLa, ATCC CCL-2) were cultured in Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) (Sigma, Germany) supplemented with 10% heat-inactivated fetal bovine serum (FBS) (Gibco, USA), 100 mM L-glutamine, 100 U/ml penicillin, 100 µg/ml streptomycin (Biological Industries, USA). All cell lines tested were found to be free of mycoplasma using the EZ-PCR Mycoplasma Detection Kit (Biological Industries, USA).

Virus isolation

A patient was admitted to the Kayseri City Training and Research Hospital on March 17, 2020 due to respiratory symptoms. The patient's nasopharyngeal sample was obtained by using a



UTM™ kit containing 1 ml of viral transport media (Copan Diagnostics, USA) on day 4 of his illness. The diluted sample was inoculated onto monolayers of Vero E6 cells and gently agitated at 37°C for 1 h. Consequently, DMEM with 2% FBS was added and the infected cells were monitored for the appearance of cytopathic effect (CPE). All handling of the virus was conducted in a biosafety level 3 enhanced facility (BSL-3).

First-strand cDNA synthesis and PCR

Viral RNA was isolated from 140 µl of the infected culture supernatant using the QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen, Germany) according to the manufacturer's recommendations. The viral RNA was reverse transcribed using the Moloney murine leukemia virus reverse transcriptase (M-MLV RT) (Thermo Scientific, USA) using random hexamers according to the manufacturer's recommendations. The reaction mixtures were incubated for 60 min at 42°C, and the reaction was stopped by heating the mixture at 95°C for 5 min and chilling it on ice. The primers used in PCR reactions were designed according to the sequences published by the Centers for Disease Control and Prevention (CDC) [21]. The PCR was conducted in a 50 µl reaction mixture containing 3 µl of cDNA template, 10 mM Tris-HCl, 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂, 2019-nCoV_N1 forward primer (5'-GACCCCAAAATCAGCGAAAT-3'), 2019-nCoV_N3 reverse primer (5'-TGTAGCAGC ATT GCAGCATTG-3'), 1 U of Taq polymerase (Thermo Scientific, USA), and 1.25 mM dNTPs. The cycling conditions were 94°C for 3 min, followed by 35 cycles of 94°C for 45 sec, 55°C for 45 sec, and 72°C for 1 min with a final extension at 72°C for 10 min. The PCR products were visualized by ethidium bromide staining after 1% agarose gel electrophoresis. The PCR reactions were also set up with two different combinations of the primers under the same conditions as described above. The primers used in the PCR reactions were 2019-nCoV_N1 forward primer (5'-GACCCCAAAATCAGCGAAAT-3'), 2019-nCoV_N2 reverse primer (5'-GCGGACATTCGGAAGAA-3') and 2019-nCoV_N3 forward primer (5'-GGGAGCCTTGAATACACCAAAA-3'), and 2019-nCoV_N2 reverse primer (5'-GCG CGACRTTCGGAAGAA-3'), respectively.

Plaque assay

Twenty-four-well plates were seeded with Vero E6 cells and incubated at 37°C with 5% CO₂. The monolayer was inoculated with 10-fold serially dilutions of the virus. After incubation for 1 h at 37°C with shaking, the monolayer was overlaid with 0.5 ml overlay medium containing 0.3% low melting agarose (Sigma, Germany). After incubation at 37°C for 3 days, the cells were fixed with 10% formalin (v/v) for 90 min at room temperature. The agarose overlay was discarded, and the plaques were visualized by staining the monolayer with 1% crystal violet (w/v) in 20% ethanol (v/v).

Virus titration

We cultured to SARS-CoV-2 passage 1 (1:100 dilution) in Vero E6 cells to make virus the passage 2 virus stock. The SARS-CoV-2 virus lysate was then harvested at 48 h post-infection and the supernatants were collected, clarified, and stored at -80°C. To determine the titer of the passage 2 virus a focus forming assay (FFA) was performed as described previously [22]. Briefly, Vero E6 cells were seeded on 96 well-plates and incubated at 37°C with 5% CO₂ for overnight. The cell monolayers were inoculated with 10-fold serial dilutions virus at 2nd passage. The diluted samples were added in triplicate to confluent Vero cell monolayers. After absorption for 1 h at 37°C, the supernatants were removed and the cells were washed with PBS. The cell monolayers were overlaid with virus medium containing 1% CMC (carboxymethyl cellulose) then incubated at 37°C with 5% CO₂ for 72 h. After fixation with 10% neutral



buffered formaldehyde at room temperature for 20 min, the cells were permeabilized with 0.1% Triton X-100 in PBS for 20 min with gentle rocking and blocked with 5% skim milk in PBS. The wells were then incubated with a human antibody to SARS-CoV-2 nucleocapsid protein (1:2500) (GenScript; HC2003) for 1h in TBST (100 mM Tris-HCl pH 8.0, 1.5 M NaCl, 1% Tween 20) at 37°C and washed 3 times with TBST. The cells were incubated for 1 h with goat anti-human IgG conjugated to fluorescein isothiocyanate (FITC) (Southern Biotech, USA) and diluted 1:1000 in TBST and then washed three times with TBST and once with distilled water. The antibody-labeled cells were detected and analyzed by immunofluorescence microscopy (Leica, UK). The fluorescent foci in each well were counted, and the virus titers were calculated and expressed as fluorescent focus units (FFU) per ml as described previously [22]. To obtain the virus passage 3 virus stock, the Vero E6 cells were infected with the virus passage 2 virus at an MOI of 0.01, and the viral lysate were harvested at 48 h post-infection and the supernatants were collected. Subsequently, the virus passage 4 virus was generated in Vero E-6 cells infected with virus passage 3 virus at a n MOI of 0.01.

Protein analysis and Western blot

Cell lysates were harvested in Laemmli sodium dodecyl sulfate–polyacrylamide (SDS) gel electrophoresis sample buffer containing 2% SDS and 5% β-mercaptoethanol. The lysates were boiled and loaded onto a polyacrylamide gel. The samples were separated on 12% resolving and 5% stacking SDS-PAGE gels in a mini electrophoresis unit (Bio-Rad, USA) at 100 V for 1 h. The proteins were transferred onto a nitrocellulose membrane (Millipore, USA) under wet conditions using a trans-blot apparatus (Bio-Rad, USA). After blocking with 5% skimmed milk, the membrane was incubated either with a rabbit polyclonal to SARS-CoV-2 spike glycoprotein (1/1000) (Abcam; ab272504) or a human antibody to the SARS-CoV-2 nucleocapsid protein (1:2500) (GenScript; HC2003) followed by a goat anti-rabbit horseradish peroxidase (HRP)-conjugated antibody (1:2000 dilution, Invitrogen, USA) and a goat anti-human horseradish peroxidase (HRP)-conjugated antibody (1:2000 dilution, Invitrogen, USA), respectively. β-actin was used as a loading control in Western blot. The membrane was reacted with the ECL substrate solution (Pierce ECL, USA). The membrane was exposed to an autoradiograph film (KODAK X-OMAT, Sigma Germany), and was developed using a Kodak developer (X-OMAT 1000A, Sigma Germany).

Viral replication kinetics

Vero E-6 and MA-104 cells cultured in 24-well-plates were infected with an MOI at an 0.1 (passage 4 virus). The cultures were harvested by scraping cell monolayers from at different time points (6, 12, 18, 24, 48 and 72 h) and stored at -80°C. The Vero E-6 cells were then inoculated with 10-fold serial dilutions of the samples in triplicate per dilution. The viral inoculum was removed. The cell monolayers were overlaid with virus medium containing 1% CMC. The cells were fixed with 10% neutral buffered formaldehyde after infection of 72 h at room temperature for 20 min, and permeabilized with Triton X-100. The wells were then incubated with a human antibody to the SARS-CoV-2 nucleocapsid protein (1:2500) (GenScript; HC2003) for 1h in TBST at 37°C and washed 3 times with TBST. The cells were incubated for 1 h with goat anti-human IgG conjugated to fluorescein isothiocyanate (FITC) (Southern Biotech, USA) and diluted 1:1000 in TBST and then washed three times with TBST and once with distilled water. Antibody-labeled cells were detected and analyzed by immunofluorescence microscopy (Leica, UK). The fluorescent foci in each well were counted, and the virus titers were calculated and expressed as fluorescent focus units per ml.



Whole genome sequencing

For whole genome sequencing of hCoV-19/Turkey/ERAGEM-001/2020, Vero E6 cells infected with the virus were used for RNA extraction. The RNA was extracted by using the QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen, Germany). The viral RNA was reverse transcribed by M-MuLV RT using random hexamers according to the manufacturer's recommendations.

The 26 DNA amplicons for full genome amplification [23] were quantified using the Quant-iT dsDNA HS Assay Kit (Invitrogen, USA) and pooled in equal concentrations. The libraries were prepared using pooled amplicons with Nextera DNA Flex Library Prep Kit (Illumina, San Diego, CA) and sequenced on an Illumina Nextseq 500 (Illumina, USA) platform with a 2x150 Cycle Kit (Gen Era Diagnostics Inc., Turkey). The quality of the raw data was evaluated by FastQC v.0.11.5 (Babraham Bioinformatics) and low-quality bases, primers and remnant adapters were trimmed using Trimmomatic v.0.32 [24]. The reads were aligned to the previously assembled sequence of the SARS-CoV-2 genome (GenBank Accession: MN908947.3) using the Burrows-Wheeler aligner v.0.7.1 with the MEM algorithm [25]. The variants were called by using Genome Analysis Toolkit (GATK) v.3.8.0 with the HaplotypeCaller algorithm [26] and were manually inspected in GenomeBrowse v2.1.2 (GoldenHelix). The variants that had low quality and a low variant fraction ($\% < 60$) were filtered. The filtered variants and reference SARS-CoV-2 genome were used to generate the consensus sequence using bcftools v1.9 [27].

For multiple sequence alignment, complete ($> 29,000$ bp) and high-coverage genomes ($n = 3970$) were used from the GISAID database. The GISAID strain genomes including the genome of our strain were aligned using the MAFFT v7.450 tool [28]. Phylogenetic analysis of the alignment was performed using the IQ-TREE v.1.6.12 with a general time-reversible (GTR) model [29]. The whole genome sequence was submitted to GenBank (ID:MT327745.1) and GISAID (ID: EPI_ISL_424366) and the raw data deposited on SRA (SAMN15062833).

Statistical analysis

GraphPad prism 7 software (GraphPad, USA) was used to perform all statistical analysis and graphics. Mann-Whitney U test was used to find significant differences between viral passages. The significance level was set as a p value of less than 0.05 where $*p < 0.05$.

Results

Isolation of hCoV-19/Turkey/ERAGEM-001/2020 from a human nasopharyngeal sample

After 24 h of incubation, very little but visible CPE was detected in virus passage 1 virus (Fig 1B). The time for the onset of CPE was typically 48 h post-infection (Fig 1C) and major CPE was observed within 72 h post-infection (Fig 1D). The cells showed some morphological changes such as cell rounding, detachment/floating and degeneration whereas no such changes were observed in the uninfected cells (Fig 1A, 1B, 1C, and 1D).

As we observed CPE in the infected monolayers, RT-PCR was used as a confirmatory assay. The primer set from CDC [21] targeting the nucleocapsid protein gene (NP) of SARS-CoV-2 was used for the PCR reactions. A PCR product size of 469 bp was amplified with the 2019-nCoV_N1 forward and 2019-nCoV_N3 reverse primers (Fig 1E, lane 2). We amplified two PCR products, with sizes of 945 bp and 549 bp, with the 2019-nCoV_N1 forward, and 2019-nCoV_N2 reverse primers and with the 2019-nCoV_N3 forward and 2019-nCoV_N2 reverse primers, as in shown Fig 1E, lane 3 and Fig 1E, lane 4, respectively.

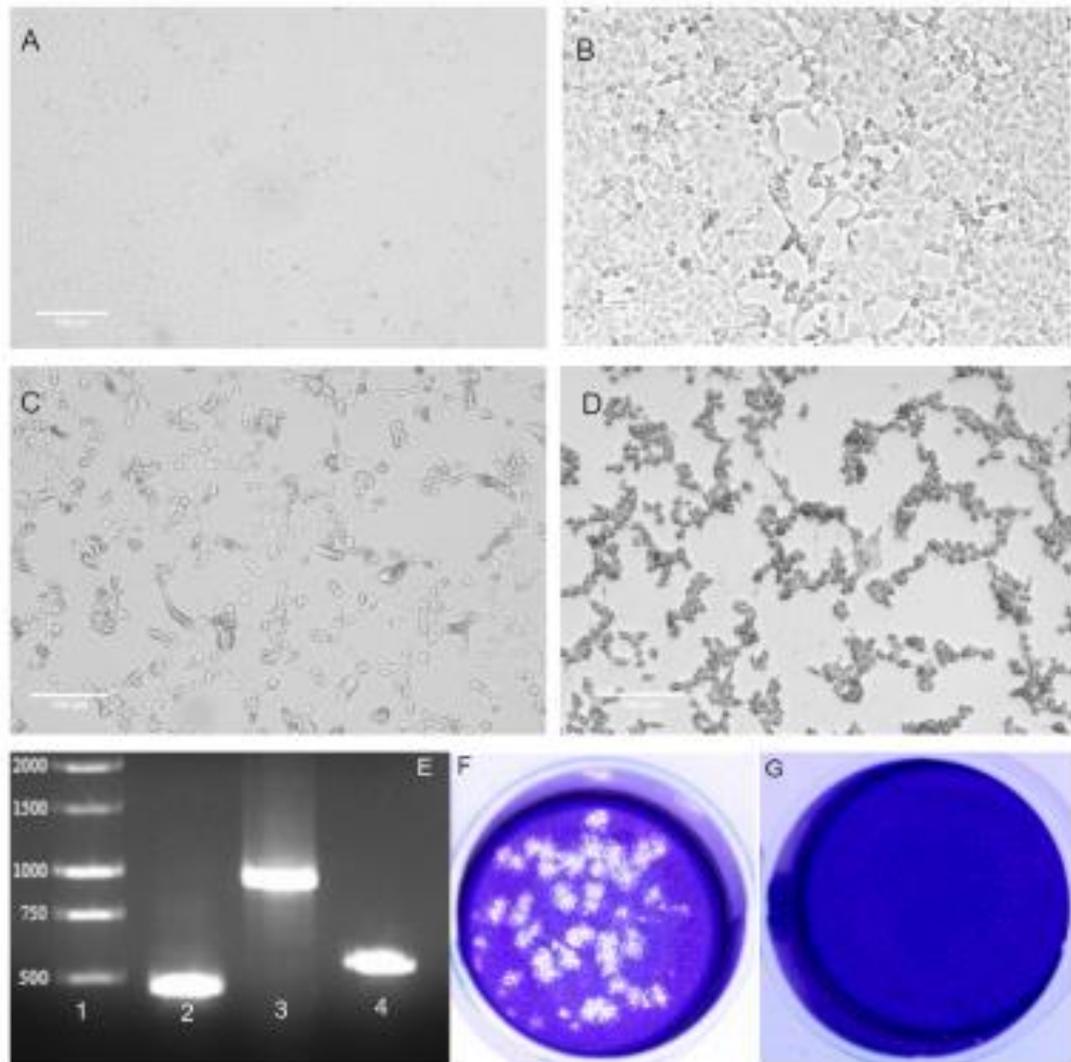


Fig 1. Isolation of hCoV-19/Turkey/ERA/GEM-001/2020 in Vero E6 cells from the nasopharyngeal sample of a patient with COVID-19 in Turkey in 2020. Phase contrast microscopy (Leica, DMI1) of cultures containing (A) mock-infected Vero E6 cells, (B) Vero E6 cells at 24 h post-infection, (C) Vero E6 cells at 48 h post-infection (D), and Vero E6 cells at 72 h post-infection. Scale bars = 100 μ m. (E) RT-PCR amplification of viral RNA from Vero E6 cells infected with hCoV-19/Turkey/ERA/GEM-001/2020 (1% gel). (1) Molecular weight marker 1 kb (MW). Target amplicons: (2) SARS-CoV-2 NP1 amplified with 2019-nCoV_N1 forward and 2019-nCoV_N3 reverse primers, 469 bp. (3) SARS-CoV-2 NP2 amplified with 2019-nCoV_N1 forward and 2019-nCoV_N2 reverse primers, 945 bp, and (4) SARS-CoV-2 NP3 amplified with 2019-nCoV_N3 forward, 2019-nCoV_N1 forward and 2019-nCoV_N2 reverse primers, 546 bp. 1% gel. Plaque morphology for SARS-CoV-2 on Vero E6 cells at 72 h post-infection. (F) SARS-CoV-2 stock was plaqued on Vero E6 cells and visualized by crystal violet staining. (G) A non-infected control; the dilution factor of SARS-CoV-2 used for infection was 10^{-4} .

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238614.g001>

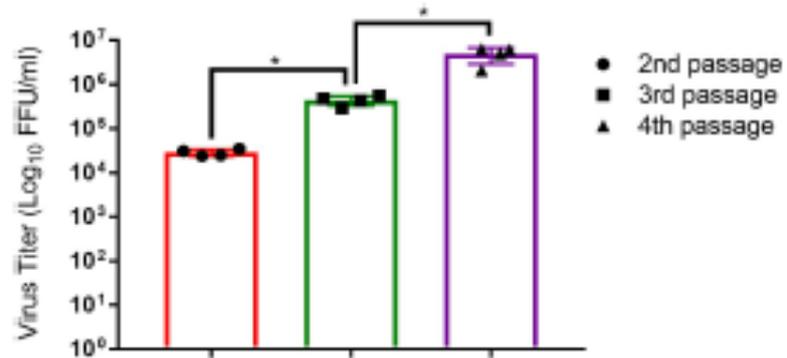


Fig 2. Passaging of hCoV-19/Turkey/ERAGEM-001/2020 in Vero E6 cells led to an increase in the viral titer. The viral supernatant was collected at 48 h post-infection in each passage and tested by a focus forming assay (FFA) for titration of the virus at the 2nd to the 4th passage. Fluorescent foci in each well were counted, and the virus titers were calculated and expressed as fluorescent focus units per ml (FFU/ml). A Mann-Whitney U test was performed for comparisons between different passage numbers of virus where $p < 0.05$ is considered significant, * $p < 0.05$. The error bars represent \pm the standard deviation.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238614.g002>

We also performed to plaque assay to purify of SARS-CoV-2 for subsequent use in further experiments. Representative SARS-CoV-2 plaques in the Vero E6 cell monolayers infected with SARS-CoV-2 are shown in Fig 1F and 1G. Taken together, these results suggest that a SARS-CoV-2 strain named hCoV-19/Turkey/ERAGEM-001/2020 was successfully isolated from the nasopharyngeal sample of a patient in Turkey with confirmed COVID-19.

Virus titration

We cultured to SARS-CoV-2 passage 1 in Vero E6 cells to make the virus passage 2 virus stock. Subsequently, the passage 2 virus stock was passaged two more times in Vero E6 cells. The virus stocks were quantified by using FFA (Fig 2). We determined that the titer of the passage 2 virus was 2.8×10^4 FFU/ml, while the titers of the passage 3 and passage 4 viruses were 4.3×10^5 FFU/ml and 4.9×10^6 FFU/ml, respectively (Fig 2). These results indicated that propagation of the hCoV-19/Turkey/ERAGEM-001/2020 strain in Vero E6 cells led to an increasing in the viral titers in each passage.

Permissiveness of hCoV-19/Turkey/ERAGEM-001/2020 among different cell lines

In addition to Vero E6 cells, we examined the susceptibility of MA-104, SW-13 and HeLa cell lines to infection by SARS-CoV-2. All cell lines were infected with an MOI of 0.1 (virus passage 4 virus) and monitored for CPE until 72 h post-infection. Only the MA-104 cell line developed CPE. In abnormal areas, small clusters of rounded cells, cell detachment and degeneration were observed (Fig 3). Similar to Vero E6 cells infected with SARS-CoV-2, CPE formation in the MA-infected cells began at 24 h post-infection (Fig 3B) and increased at 48 h post-infection (Fig 3C). The complete CPE was observed within 72 h post-infection (Fig 3D).

To confirm the results of the susceptibility of the MA-104, SW-13 and HeLa cell lines to infection by SARS-CoV-2, all cell lines were infected with an MOI of 0.1 (passage 4 virus) and incubated at 48 h post-infection. An immunofluorescence assay (IFA) confirmed that the Vero

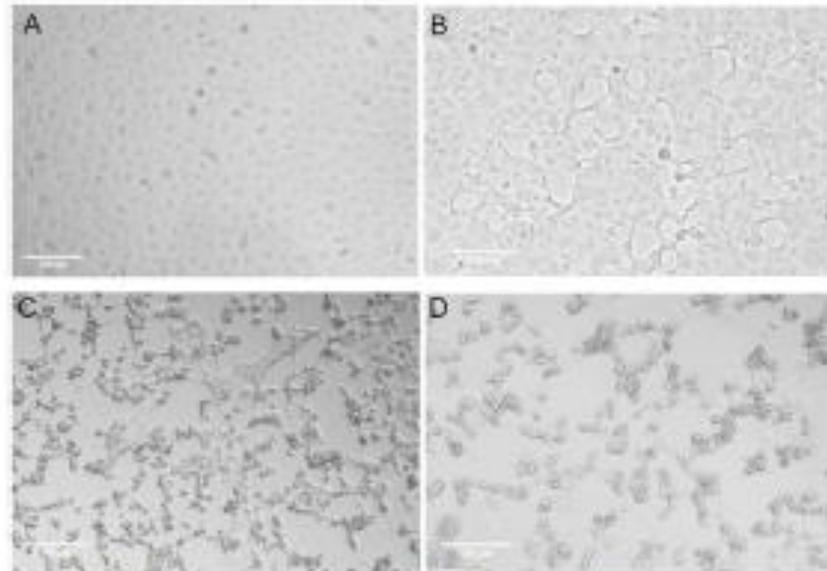


Fig 3. MA-104 cells supported replication of hCoV-19/Turkey/IRA GEM-001/2020. Phase contrast microscopy (Leica, DM10) of cell lines containing (A) mock-infected MA-104 cells, (B) MA-104 cells at 24 h post-infection, (C) MA-104 cells at 48 h post-infection, and (D) MA-104 cells at 72 h post-infection. Scale bars = 100 µm.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238614.g003>

E6 and MA-104 cell lines supported the replication of SARS-CoV-2. In contrast, SARS-CoV-2 did not replicate in SW-13 and HeLa cells. (Fig 4).

To expand these observations, we examined the expression of the SARS-CoV-2 proteins. All cell lines were infected with an MOI of 0.5 (passage 4 virus). Cell lysates from infected cell lines were harvested at 24 h post-infection and were probed either with the rabbit polyclonal antibody to SARS-CoV-2 spike glycoprotein or with a human antibody to the SARS-CoV-2 nucleocapsid protein. SARS-CoV-2 spike protein (S) expression was detected in Vero E6 and

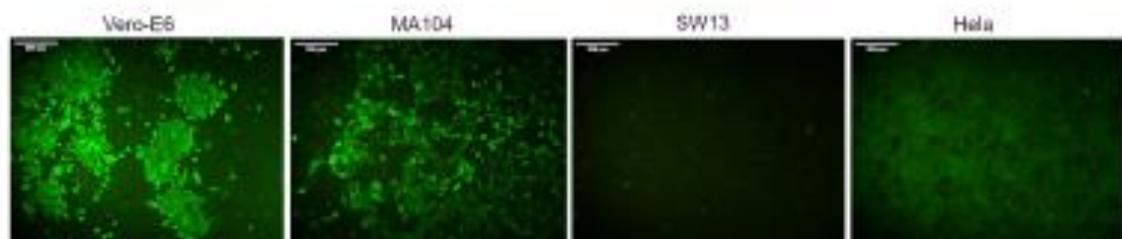


Fig 4. Susceptibility of different cell lines to infection with hCoV-19/Turkey/IRA GEM-001/2020. The cell lines were infected with an MOI of 0.1, washed after adsorption, and the cell monolayers were overlaid with virus medium containing 1% CMC and incubated at 37°C with 5% CO₂ for 48 h. After fixation with 10% formaldehyde, the cells were permeabilized with 0.1% Triton X-100 and blocked with 5% skim milk in PBS. The wells were then incubated with a human antibody to the SARS-CoV-2 nucleocapsid protein (1:2500) (GenScript, HC2003) for 1 h in TBST (100 mM Tris-HCl pH 8.0, 1.5 M NaCl, 1% Tween 20) at 37°C, followed by washing three times, after which the cells were incubated for 1 h with goat anti-human IgG conjugated to FITC-FITC (Southern Biotech, USA). The antibody-labeled cells were detected and analyzed by means of fluorescence microscopy (Leica, DFC450C). Scale bars = 200 µm.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238614.g004>

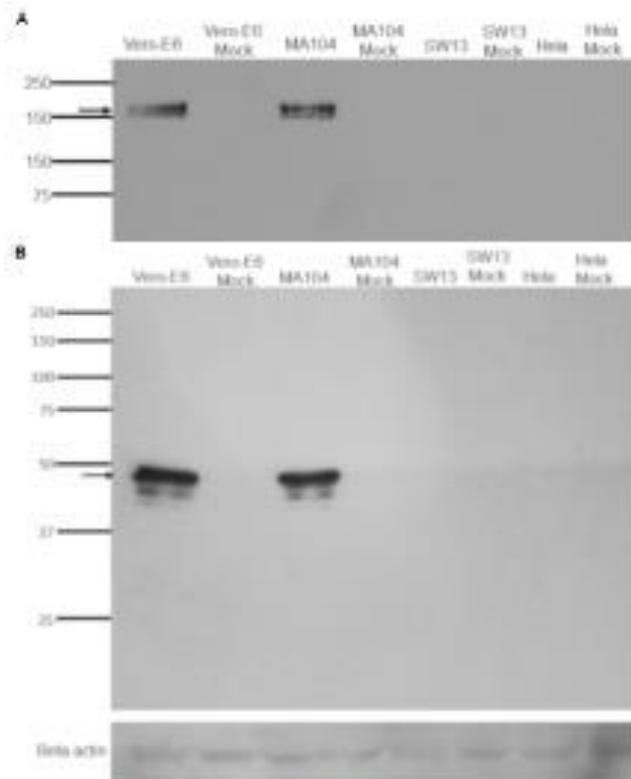


Fig 5. Western blot assay to examine SARS-CoV-2 protein production. The hCoV-19/Turkey/ERAGIM-001/2020 strain was used to infect the cell lines at an MOI of 0.5. The whole cell lysate samples were collected at 24 h post-infection. The Western blot assay was performed to examine the production of viral proteins using a rabbit polyclonal antibody to the SARS-CoV-2 spike glycoprotein (S) (1/1000) (Abcam; ab272506) and a human antibody to the SARS-CoV-2 nucleoprotein (NP) (1:2500) (GenScript; HC2006). The membrane was reacted with the HRP substrate solution (Pierce & Warriner, USA). The membranes were exposed to an autoradiograph film (E-CODAX X-OMAT, Sigma Germany), and was developed using a Kodak developer (X-OMAT 1000A, Sigma Germany). The arrows indicate that the bands at approximately 180 kDa (Fig 5A) and 48 kDa (Fig 5B) represent S and NP, respectively.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238514.g005>

MA-104 cell lines that supported SARS-CoV-2 replication (Fig 5A). The Vero E6 and MA-104 cell lines also showed a SARS-CoV-2 nucleoprotein (NP) band, as shown in Fig 5B. Consistent with the IFA results (Fig 4), viral antigen expression was not detectable in the non-susceptible SW-13 and HeLa cell lines (Fig 5). Overall, these results showed that the Vero E6 and MA-104 cell lines can be efficiently infected by SARS-CoV-2.

Viral replication kinetics

To assess the replication kinetics, Vero E6 and MA-104 cells were infected with an MOI of 0.1, and the supernatants were harvested at different time points (6, 12, 18, 24, 48 and 72 h post-infection). The Vero E6 and MA-104 cell monolayers were then inoculated with 10-fold serial dilutions of the samples. Viral titers of the samples were determined by FFA (Fig 6A). The growth kinetics study showed that SARS-CoV-2 replicated rapidly and efficiently and could be detected within 6 h post-infection in Vero E6 and MA-104 cells (Fig 6A and 6B).

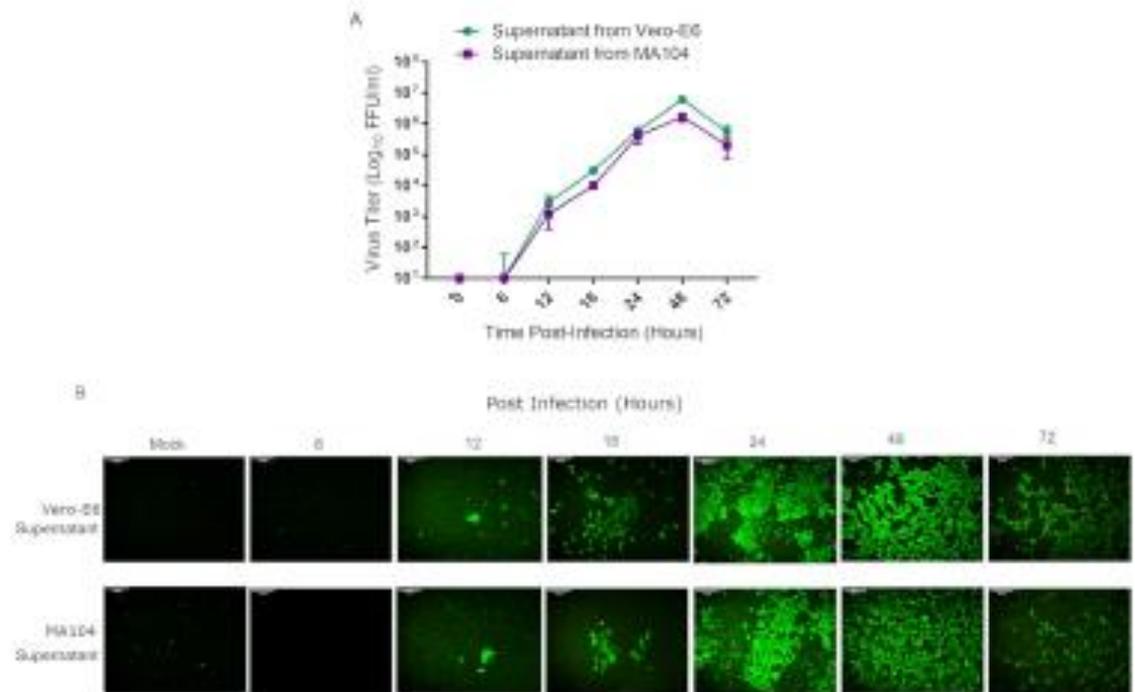


Fig 6. Multi-step growth kinetics of hCoV-19/Turkey/ERAGEM-001/2020. Vero E6 and MA-104 cell lines were infected at an MOI of 0.1 (A) The culture supernatants were harvested from at different time points (6, 12, 24, 48 and 72 h) and stored at -80 °C. The Vero E6 cells were then inoculated with 10-fold serial dilutions of the samples in triplicate per dilution. The virus titers were determined by a focus forming assay (FFA) at the indicated intervals and were analyzed in triplicate. The fluorescent foci in each well were counted, and the virus titer was calculated and expressed as fluorescent focus units per ml (FFU/ml). The standard bars represent standard deviations of the mean of the results. (B) The infected cells (Vero E6 supernatant, top panel, and MA-104 supernatant, lower panel) were stained with the FITC-labeled goat anti-human IgG at the indicated time points and examined under a fluorescence microscope (Leica, DFC450C); for each group, the representative image out of three replicates is shown. Scale bars = 200 μm.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0239814.g006>

SARS-CoV-2 replicated in Vero E6 and MA-104 cells with similar kinetics and achieved similar peak titers of 6.1×10^6 FFU/ml and 1.6×10^6 FFU/ml at 48 h of post-infection, respectively (Fig 6A). However, the viral titer decreased after 48 h infection. At 72 h post-infection, the titers from the samples Vero E6 and MA-104 infected with SARS-CoV-2 were 5.4×10^5 FFU/ml and 2×10^5 FFU/ml, respectively (Fig 6A).

hCoV-19/Turkey/ERAGEM-001/2020 whole genome sequencing

The sequencing produced approximately 4.9 M paired reads (150 bp x2), of which 95.2% of the reads were mapped to the reference genome. After alignment, 99.6% of the genome was covered with a 2620x sequencing depth on average. The whole-genome sequencing of hCoV-19/Turkey/ERAGEM-001/2020 revealed that the strain had 6 variants, compared to the MN908947.3 reference genome. The detected 2 non-synonymous, 3 synonymous, and 1 UTR variants are listed in Table 1. The variants were found to correspond to the genomic positions 1397 and 11083 (ORF1ab gene), 23876 (S gene), 26688 (NP gene), 29563 (ORF10 gene) and 29742 (3' UTR). The mutations at 1397 and 23876 are non-synonymous, leading to a change from Valine to Isoleucine in genes ORF1ab and S (Table 1).



Table 1. Genetic diversity of hCoV-19/Turkey/ERAGEM-001/2020 compared to the MN908947.3 reference genome of the SARS-CoV-2 Wuhan-Hu-1 isolate.

Pos	Gene	Ref	Alt	AA Pos	Ref AA	Alt AA	Depth	VF(%)
1397	ORF1ab	G	A	370	Val	Ile	45501	99.6
11083	ORF1ab	G	T	3605	Leu	Leu	17037	72.3
23876	S	G	A	772	Val	Ile	21239	99.9
28688	NP	T	C	139	Leu	Leu	35885	99.7
29563	ORF10	C	T	2	Gly	Gly	55600	99.4
29742	3'UTR	G	T	-	-	-	78352	99.7

Form: Position, Ref = Reference, Alt = Alternative, AA = Amino Acids, VF(%) = Variant Fraction.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238814.t001>

The phylogenetic analysis showed that hCoV-19/Turkey/ERAGEM-001/2020 was located outside of the main clades (S, G, and V) and clustered with SARS-CoV-2 isolates from Australia, Canada, England and Kuwait (Fig 2). This geographically dispersed cluster is known to be branched in the early period of the epidemic and genetically clustered very closely together. Our strain shared three distinct mutations (G1397A, T28688C, and G29742T) with all members of this cluster, and these mutations were not observed in other known clusters. According to published case reports and GISAID metadata entries, at least 9 SARS-CoV-2 samples in the nearby clusters had a recent travel history to Iran [30]. Those samples in nearby clades include several cases from Pakistan, Kuwait, Canada, and Norway (Fig 2). The genome sequences of all those cases with a history of travel to Iran share three nucleotide substitutions (G1397A, T28688C, and G29742T) in the SARS-CoV-2 genome, which were also found in the hCoV-19/Turkey/ERAGEM-001/2020 strain. The GISAID had only one full genome sequence of SARS-CoV-2 from Iran, which also included the two key mutations (G1397A and G29742T). In addition, analysis of the NP partial gene sequences of the Iranian samples in GISAID showed that all of the Iranian partial sequences (n = 15) also contain the T28688C, which is another key single nucleotide polymorphism (SNP) of this clade. Our strain also contained G23876A, a non-synonymous mutation in the S gene, which was not observed in any other full genome sequences in GISAID. The mutation leads to a Val to Ile change at the 772nd position, which is located at one of the inner coil motifs of the S protein. Another mutation in the ORF10 gene (C29563T) is also quite rare and found only in two cases in Australian samples.

This study generated the second whole genome sequence of a SARS-CoV-2 strains in Turkey. The first sequence was generated in March 2020 and deposited in GISAID (EPI_ISL_417413). The first sequence was not included in the phylogenetic analysis because of its high number of unique mutations (0.44%). However, the sequence comparison showed that both sequences carry key Iranian cluster mutations including G1397A, T28688C, and G29742T. The G11083T, G23876A, and C29563T nucleotide changes in our strain were not found in the first sequenced strain in Turkey. As of April 2020, a total of 17 SARS-CoV-2 sequences have been submitted to GISAID samples from Turkey. Two of those sequences (Turkey/HGSM/5516/2020 and Turkey/HGSM/8010/2020) were located in the same cluster and share cluster-specific variants (G1397A, T28688C, G29742T). The rest of the submitted strains clustered with several other European clades.

Discussion

SARS-CoV-2 is an emerging coronavirus that is highly infectious and efficiently transmitted through droplets and close contact. The virus has been able to spread promptly to several countries throughout the world [31–35]. The SARS-CoV-2 pandemic is likely to have serious effects on not only people's health but also societies, health system worldwide and the global



Fig 7. Phylogenetic analysis of the full-length genomes of SARS-CoV-2. (A) A phylogenetic tree of known sequences of SARS-CoV-2 (n = 3970) and the location of our cluster. (B) The sub-tree includes the strains of hCoV-19/Turkey/ERAGLEM-001/2020, and other strains from Turkey are highlighted in red. The cases that were known to have G1397A, Y22668K, and G29742T mutations and an Iran travel history or direct contact with the Iran travelers are highlighted in green.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238814.g007>



economy [36–38]. In the current outbreak situation, it is crucial to isolate of the causative virus for vaccine strain production, initial characterization of antiviral candidates and evaluation of diagnostic tools. SARS-CoV-2 was first isolated by using human airway epithelial cells on January 7, 2020 [14, 39]. Following to the first isolation of SARS-CoV-2 in China, several groups have also isolated SARS-CoV-2 by using the Vero cell line [40–43]. In this study, we isolated the SARS-CoV-2 from the nasopharyngeal sample of a patient in Turkey with confirmed COVID-19. Isolation of SARS-CoV-2 was successfully achieved in Vero E6 cells in the absence of trypsin. SARS-CoV-2 caused morphological changes such as rounding, detachment/floating and degeneration (Fig 1B, 1C and 1D).

It is essential to define different target cells for SARS-CoV-2 for further studies on virus-host interactions. Chu and colleagues identified different cell lines in which both SARS-CoV and SARS-CoV-2 replicated efficiently, but the cytopathic effects were only seen in the non-human primate kidney cell lines VeroE6 and FRhK4 [40]. Recently, a study showed that the Vero E6 and Vero CCL81 cell lines were infected with SARS-CoV-2 and exhibited to SARS-CoV-2 specific CPE. These authors found that HUH7.0 and 293T cells showed only modest viral replication but no CPE was observed, suggesting that both Vero cell types support amplification and replication of SARS-CoV-2 but that Vero E6 cells are more suitable for amplification and quantification [42]. In this study, we assessed the susceptibility of Vero E6, MA-104, SW-13 and HeLa cell lines to infection by SARS-CoV-2. We determined that the Vero E6 and MA-104 cell lines were permissive for SARS-CoV-2 infection. Initial CPE formation in Vero E6 and MA-104 cell lines infected with SARS-CoV-2 was observed as early as at 24 h post-infection (Figs 1B and 3B, respectively). Immunoblotting analysis also confirmed that only Vero E6 and MA-104 cell lines infected with SARS-CoV-2 showed the expression of the virus specific proteins expression (Fig 5). In addition to Vero E6 cells, the MA 104 cell line pertaining to its suitability for SARS-CoV-2 proliferation and facilitate further study of SARS-CoV-2. Our results are in agreement with the previous reports showing that SARS-CoV replicated efficiently and caused CPE in Vero and MA-104 cell lines [44–47].

In order to evaluate the viral growth kinetics of SARS-CoV-2, the Vero E6 and MA-104 cell lines were infected with at an MOI of 0.1. Viral replication was assessed at different time points (6, 12, 18, 24, 48 and 72 h post-infection). We used FFA for all virus titration experiments in this study, since FFA is independent of cell death. SARS-CoV-2 replicated with a similar kinetics in Vero E6 and MA-104 cells, but the MA-104 cells supported replication of SARS-CoV-2 slightly less well than the Vero E6 cells (Fig 6A). Viral replication could be detected at 12 h post-infection, and continued to increase gradually, peaking at 48 h post-infection (Fig 6A and 6B). The decline in virus titer at 72 h post-infection which might be due to death of the infected cells or to the cell lysis (Fig 6A). Our data are in agreement with that of Harcourt et al., in which SARS-CoV-2 replicated rapidly in Vero cells after an initial eclipse phase and increased gradually, peaking at 48 h post-infection [42].

Lastly, we have compared the whole genome of hCoV-19/Turkey/ERA GEM-001/2020 with a dataset of 3970 available SARS-CoV-2 complete genomes from different countries retrieved from GISAID. The hCoV-19/Turkey/ERA GEM-001/2020 strain was closely clustered with other strains primarily from Australia, Canada, England, Iran, and Kuwait. The reason for the high fraction of Australian cases in this cluster was possibly due to the high number of submitted sequences, as Australia was the third country that had the most sequences submitted to GISAID by April 2020. The cases in the nearby clusters were reported to have a travel history to Iran and shared the common unique nucleotide substitutions, G1397A, T28688C, and G29742T, which were also found in our strain and partially in several Iranian cases [30]. The common key mutations and similar travel histories of the closely clustered cases may indicate possible links between our case and the Iranian epidemic. Interestingly, hCoV-19/Turkey/



ERAGEM-001/2020 has the G23876A mutation on the S gene, which is not found in any other full genome sequences in GISAID, including the Australian cluster. The lack of some variants (G11083T, G23876A, and C29563T) in the previously sequenced Turkey strains may also show multiple introductions of strains in the early stages of the epidemic. In this regard, the potential limitation of this finding is the limited number of sequences available for analysis. Further studies with more sequences are needed to determine the distribution of this variant in Turkey and tracing the origin of this strain.

Conclusions

We have describe the successful isolation of SARS-CoV-2 from a patient in Turkey with confirmed COVID-19. We determined that the Vero E6 and MA-104 cell lines might be a good choice of cell culture model for SARS-CoV-2 that supports viral replication kinetics, development of CPE and subsequent cell death. We also showed that hCoV-19/Turkey/ERAGEM-001/2020 was closely clustered with other strains primarily from Australia, Canada, England, Iran, and Kuwait and that the cases in the nearby clusters were reported to have a travel history to Iran and to share the common unique nucleotide substitution.

Supporting information

S1 Raw images.
(DOCX)

Acknowledgments

Our gratitude is expressed towards the staff at the infectious diseases ward at the Kayseri City Training and Research Hospital for providing us with the fresh material for this study.

Author Contributions

Conceptualization: Aykut Ozdarendeli.

Formal analysis: Shaikh Terkis Islam Pavel, Hazel Yetiskin, Günsu Aydın, Muhammet Ali Uygut, Aykut Ozdarendeli.

Investigation: Shaikh Terkis Islam Pavel, Hazel Yetiskin, Günsu Aydın, Muhammet Ali Uygut, Zehra Bestepe Dursun, İlhami Çelik.

Methodology: Shaikh Terkis Islam Pavel, Hazel Yetiskin, Günsu Aydın, Muhammet Ali Uygut, Zehra Bestepe Dursun, İlhami Çelik, Ceren Çevik, Aykut Ozdarendeli.

Project administration: Muhammet Ali Uygut, Aykut Ozdarendeli.

Resources: Aykut Ozdarendeli.

Software: Shaikh Terkis Islam Pavel, Can Holysavkin.

Writing – original draft: Shaikh Terkis Islam Pavel, Can Holysavkin.

Writing – review & editing: Aykut Ozdarendeli.

References

1. Mostasa PS, Perlman S. Coronaviridae. In: Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields virology*. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2013. pp 88–125.



2. Soler J, Almecón F, Zúñiga F, Enjuanes L. 2015; Continuous and Discontinuous RNA Synthesis in Coronaviruses. *Annu Rev Virol*. 2: 265–288. <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-100114-0552-18>. PMID: [26058016](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26058016/).
3. Ozdemirli A, Kuş, Rochet S, Williams DG, Saranyska SD, Brian DA. Downstream Sequences Influence the Choice between a Naturally Occurring Noncanonical and Closely Positioned Upstream Canonical Heptameric Fusion Motif during Bovine Coronavirus Subgenomic mRNA Synthesis. *J Virol*. 2001; 75: 7362–7374. <https://doi.org/10.1128/JVI.75.18.7362-7374.2001>. PMID: [11462008](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11462008/).
4. Wu Hung-Yi, Ozdemirli A, David A, Brian Boylne Coronavirus 5'-Proximal Genomic Acceptor Hoop for Discontinuous Transcription Is 6.5 Nucleotides Wide. 2006; *J Virol*. 80:2162–63. <https://doi.org/10.1128/JVI.80.5.2162-2163.2006>. PMID: [16474128](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16474128/).
5. Ye ZW, Yuan S, Yuan KS, Fung SY, Chan DY, Jin DY. 2020; Zoonotic origins of human coronaviruses. *Int J Biol Sci*. 18:1686–1697. <https://doi.org/doi:10.7150/ijbs.45472>. PMID: [32228288](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32228288/).
6. Weiss SR, Leibowitz JL. Coronavirus pathogenesis. *Adv Virus Res*. 2011; 81: 85–164. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-388885-8.00002-2>. PMID: [22094080](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22094080/).
7. Chen Y, Liu Q, Guo D. Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. *J Med Virol*. 2020; 92:418–423. <https://doi.org/10.1093/jm/92.03.418>. PMID: [31387327](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31387327/).
8. Su S, Wong G, Shi W, Liu J, Lai AC, Zhou J, et al. Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses. *Trends Microbiol*. 2016; 24: 490–502. <https://doi.org/10.1016/j.tmic.2015.09.003>. PMID: [27012512](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27012512/).
9. Chu DKW, Poon L, Gomes M, Shalhoub M, Peiris RA, Abu Zaid D, et al. MERS coronavirus in dromedary camels, Egypt. *Emerg Infect Dis*. 2014; 20: 1049–1053. <https://doi.org/10.3201/e2008.140209>. PMID: [24898890](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24898890/).
10. Cui J, Li F, Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol*. 2019; 17: 181–192. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0118-9>. PMID: [30531947](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30531947/).
11. Nishiura H, Miyama T, Suzuki A, Jung SM, Hayashi K, Kinoshita M, et al. Evidence for the early introduction of the 2019 novel coronavirus into the mainlands of China. *JAMA*. 2020; 323:1097–1010. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.1049>. PMID: [32091432](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32091432/).
12. Wu E, van Deman N, Fabiani D, Munster VJ. SARS and MERS: Recent insights into a emerging coronavirus. *Nat Rev Microbiol*. 2016; 14: 520–534. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.81>. PMID: [27344259](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27344259/).
13. Fahr AR, Chamappanavar R, Perlman S. Middle East Respiratory Syndrome: Emergence of a Pathogenic Human Coronavirus. *Annu Rev Med*. 2017; 68: 387–399. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-06-0215-081152>. PMID: [27578010](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27578010/).
14. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med*. 2020; 382: 727–733. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001017>. PMID: [31379545](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31379545/).
15. Grollnick LE, Menachery VD. Return of the Coronavirus: 2019-nCoV. *Virology*. 2020; 12: 135. <https://doi.org/10.1016/j.viro.2020.02.015>. PMID: [31991541](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31991541/).
16. GISAID Database. 2020 Coronavirus. <https://www.gisaid.org/CoV2020/>. (accessed on Jan 19, 2020).
17. WHO. Named the New Pneumonia COVID-19. <https://www.xinhuanet.com/world/2020-02/12/c11268610389.htm>. (accessed on Feb 12, 2020).
18. Chan JFW, Yuan S, Kok KH, To KKW, Chu H, Yang J, et al. A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster. *Lancet*. 2020; 395: 514–518. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30154-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30154-9). PMID: [31984281](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31984281/).
19. Li Q, Guan X, Wu P, Wang X, Zhou L, Tong Y, et al. Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus-Infected Pneumonia. *N Engl J Med*. 2020; 382: 1199–1207. <https://www.n engl j med. doi/10.1056/NEJMoa2001014>. PMID: [31929857](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31929857/).
20. Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet*. 2020; 395: 507–513. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30211-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30211-7). PMID: [32007143](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32007143/).
21. Centers for Disease Control and Prevention Home Page. Available from: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-nCoV/downloads/ds-vpc-panel-for-detection-instructions.pdf> (accessed on Feb 14, 2020).
22. Barber E, Cernakoglu N, Youk MD, Tonbak S, Akca M, Ertek M, et al. Application of the pseudo-plaque assay for detection and titration of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *J Virol Methods*. 2012; 187: 26–31. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2012.07.025>. PMID: [22028034](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22028034/).
23. Wu F, Zhao S, Yu B, Chen YM, Wang W, Song ZQ, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*. 2020; 579: 265–269. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2003-3>. PMID: [32015508](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32015508/).



24. Bolger AM, Lohse M, Usade JB. Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*. 2014; 30: 2114–2120. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170> PMID: 24826404
25. Li H, Durbin R. Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform. *Bioinformatics*. 2009; 25: 1754–1760. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp324> PMID: 19331163
26. DePristo MA, Banks E, Poplin R, Garimella KV, Maguire JR, Hartl C, et al. A framework for variation discovery and genotyping using next-generation DNA sequencing data. *Nat Genet*. 2011; 43: 491–498. <https://doi.org/10.1038/ng.808> PMID: 21478889
27. Narasimhan V, Danecek P, Scally A, Xue Y, Tyler-Smith C, Durbin R, et al. BCFlank/Flank: a hidden Markov model approach for detecting autozygosity from next-generation sequencing data. *Bioinformatics*. 2016; 32: 1749–1751. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw044> PMID: 26826716
28. Katoh K, Standley DM. MAFFT Multiple Sequence Alignment Software Version 7: Improvements in Performance and Usability. *Mol Biol Evol*. 2013; 30: 772–780. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst010> PMID: 23320530
29. Nguyen LT, Schmidt HA, von Haeseler A, Minh BC. IQ-TREE: A Fast and Effective Stochastic Algorithm for Estimating Maximum-Likelihood Phylogenies. *Mol Biol Evol*. 2014; 32: 268–274. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst026> PMID: 25371430
30. Eden JS, Rodatti R, Carter I, Rahman H, de Ligt J, Hadfield J, et al. An emergent clade of SARS-CoV-2 linked to returned travellers from Iran. *Virus Evol*. 2020; 8(1): veaa027. <https://doi.org/10.1093/ve/vyaa027> PMID: 32292544
31. Dong E, Du H, Gardner L. An interactive web-based dashboard to track COVID-19 in real time. *Lancet Infect Dis*. 2020; 5: 833–834. [10.1016/S1473-3099\(20\)30120-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30120-1) PMID: 32087114
32. Anon M, Yin E, Kliff L, Lokhandwala S, Nishi FX, Ghong M, et al. Characteristics and Outcome of 21 Critically Ill Patients With COVID-19 in Washington State. *JAMA*. 2020; 323: 1812–1814. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.4328> PMID: 32131293
33. Guo Q, Li M, Wang C, Wang P, Fang Z, Tian J, et al. Host and infectivity prediction of Wuhan 2019 novel coronavirus using deep learning algorithm. *bioRxiv*. 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.01.21.314044>
34. Holshue ML, DeBorja C, Lindquist S, Lofy KH, Wiesman J, Bruce H, et al. First Case of 2019 Novel Coronavirus in the United States. *N Engl J Med*. 2020; 382: 939–945. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001191> PMID: 32044271
35. Carlo C, Marielichien DN, Nicole B, Roberto DG, Mauro T, Salvatore R. The novel zoonotic COVID-19 pandemic: An expected global health concern. *J Infect Dev Ctries*. 2020; 14: 254–264. <https://doi.org/10.28924/2474-1267> PMID: 32208085
36. Aylitav FK, Aylitav M K, Chivero NB, Kamsiah JS, Dzuvor C. Economic Impacts of Wuhan 2019-nCoV on China and the World. *J Med Virol*. 2020; 92: 473–475. <https://doi.org/10.1002/jmv.25706> PMID: 32048740
37. Nicole M, Abdil Z, Samrahi C, Karwan A, Al-Jabir A, Isafidis C, et al. The Socio-Economic Implications of the Coronavirus and COVID-19 Pandemic: A Review. *Int J Surg*. 2020 Apr 17. <https://doi.org/10.1055/j.su.2020.04.018> PMID: 32204823
38. Holmes EA, O'Connor RC, Parry VH, Irena T, Simon W, Louise A, et al. Multidisciplinary research priorities for the COVID-19 pandemic: a call for action for mental health sciences. *Lancet Psychiatry*. 2020 Apr 15. pii: S2015-0868(20)30188-1. [10.1016/S2015-0868\(20\)30188-1](https://doi.org/10.1016/S2015-0868(20)30188-1) PMID: 32304640
39. WHO. Novel Coronavirus(2019-nCoV) Situation Report-1. <https://www.who.int/docs/default-source/coronavirus/situation-reports/20200121-sitrep-1-2019-ncov.pdf> (accessed on Apr 21, 2020).
40. Park WB, Kwon NJ, Choi SJ, Kang CK, Cho PG, Kim JY, et al. Virus isolation from the first patient with SARS-CoV-2 in Korea. *J Korean Med Sci*. 2019; 35: e84. <https://doi.org/10.3346/jkms.2020.35.e84> PMID: 32080260
41. Havel A, Tereho S, Suvil K, Pamela Ö, Juseli H, Niina I, et al. Serology and molecular findings during SARS-CoV-2 infection: the first case study in Finland, January to February. *Euro Surveill*. 2020; 25(11): pii=2000268. <https://doi.org/10.2807/1565-7917.ES.2020.25.11.2000268> PMID: 32200183
42. Hancock J, Tamim A, Lu X, Kamili S, Sakthivel SK, Murray J, et al. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 from Patient with 2019 Novel Coronavirus Disease, United States. *Emerg Infect Dis*. 2020 Mar 11. <https://doi.org/10.3201/4608.200816> PMID: 32160149
43. Montell V, Kwon H, Prado P, Hagekristy A, Wimmer PA, Stanim, et al. Inhibition of SARS-CoV-2 infections in engineered human tissues using clinical-grade soluble human ACE2. *Cell*. 2020 Apr 17. pii: S0092-8674(20)30394-8. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.04.004> PMID: 32203688
44. Chu H, Chan JF-W, Yuen TT-T, Shuai H, Yuan S, Wang Y, et al. Comparative tropism, replication kinetics, and cell damage profiling of SARS-CoV-2 and SARS-CoV and implications for clinical



- manifestations, transmissibility, and laboratory studies of COVID-19: an observational study. *Lancet Microbiol.* 2020. [https://doi.org/10.1016/S2666-5267\(20\)30004-5](https://doi.org/10.1016/S2666-5267(20)30004-5), published online April 21.
45. Kaya M, Druce J, Tran T, Kostedal R, Cibulskis D, Morris J, et al. SARS-associated Coronavirus Replication in Cell Lines. *Emerg Infect Dis.* 2008; 12: 128–133. <https://doi.org/10.3201/e1201.060408> PMID: [18404723](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18404723/).
 46. De Diego ML, Nieto-Tomas JL, Jimenez-Guardado JM, Regla-Nava JA, Alvarez E, Oliveros JC, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus envelope protein regulates cell stress response and apoptosis. *PLoS Pathog.* 2011 Oct; 7(10):e1002015. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002015> PMID: [22028899](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22028899/).
 47. Mossa EC, Huang C, Narayanan K, Makino S, Tesh RB, Peters CJ. Exogenous ACE2 expression allows refractory cell lines to support severe acute respiratory syndrome coronavirus replication. *J Virol.* 2005; 79: 3848–3850. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.8.3848-3850.2005> PMID: [15731278](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15731278/).



Article

Development of an Inactivated Vaccine against SARS CoV-2

Shaikh Terkis Islam Pavel^{1,2}, Hazel Yetiskin^{1,2}, Muhammet Ali Uygut², Ahmet Furkan Aslan^{1,2},
Günsu Aydın^{1,2}, Öznur İnan³, Büşra Kaplan^{1,2} and Aykut Özdarendeli^{1,2,*}

- ¹ Department of Microbiology, Medical Faculty, Erciyes University, Kayseri 38280, Turkey; biotech.pavel@outlook.com (S.T.I.P.); hazelyetiskin@gmail.com (H.Y.); afulan95@gmail.com (A.F.A.); gunsuaydin@gmail.com (G.A.); busra.kaplan.3@gmail.com (B.K.)
² Vaccine Research, Development and Application Center, Erciyes University Kayseri 38280, Turkey; mauygut@gmail.com
³ Istanbul Experimental Research Development and Education Center (IDEA), Istanbul 34303, Turkey; oznurinan.vet@gmail.com
* Correspondence: aozdarendeli@erciyes.edu.tr



Citation: Pavel, S.T.I.; Yetiskin, H.; Uygut, M.A.; Aslan, A.F.; Aydın, G.; İnan, O.; Kaplan, B.; Özdarendeli, A. Development of an Inactivated Vaccine against SARS CoV-2. *Vaccines* 2021, 9, 1266. <https://doi.org/10.3390/v9111266>

Academic Editor: Ralph A. Tripp

Received: 5 October 2021

Accepted: 30 October 2021

Published: 2 November 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: The rapid spread of SARS-CoV-2 with its mutating strains has posed a global threat to safety during this COVID-19 pandemic. Thus far, there are 123 candidate vaccines in human clinical trials and more than 190 candidates in preclinical development worldwide as per the WHO on 1 October 2021. The various types of vaccines that are currently approved for emergency use include viral vectors (e.g., adenovirus, University of Oxford/AstraZeneca, Gamaleya Sputnik V, and Johnson & Johnson), mRNA (Moderna and Pfizer-BioNTech), and whole inactivated (Sinovac Biotech and Sinopharm) vaccines. Amidst the emerging cases and shortages of vaccines for global distribution, it is vital to develop a vaccine candidate that recapitulates the severe and fatal progression of COVID-19 and further helps to cope with the current outbreak. Hence, we present the preclinical immunogenicity, protective efficacy, and safety evaluation of a whole-virion inactivated SARS-CoV-2 vaccine candidate (ERUCoV-VAC) formulated in aluminium hydroxide, in three animal models, BALB/c mice, transgenic mice (K18-hACE2), and ferrets. The hCoV-19/Turkey/ERAGEM-001/2020 strain was used for the safety evaluation of ERUCoV-VAC. It was found that ERUCoV-VAC was highly immunogenic and elicited a strong immune response in BALB/c mice. The protective efficacy of the vaccine in K18-hACE2 showed that ERUCoV-VAC induced complete protection of the mice from a lethal SARS-CoV-2 challenge. Similar viral clearance rates with the safety evaluation of the vaccine in upper respiratory tracts were also positively appreciable in the ferret models. ERUCoV-VAC has been authorized by the Turkish Medicines and Medical Devices Agency and has now entered phase 3 clinical development (NCT04942405). The name of ERUCoV-VAC has been changed to TURKOVAC in the phase 3 clinical trial.

Keywords: SARS-CoV-2; vaccine; inactivated vaccine; immunogenicity; ERUCoV-VAC; COVID-19 vaccine; TURKOVAC

1. Introduction

COVID-19 is caused by a novel positive-strand RNA coronavirus (SARS-CoV-2) belonging to the Coronaviridae family, along with severe acute respiratory syndrome (SARS) and the Middle East respiratory syndrome (MERS) coronavirus [1]. The transcription of coronaviruses requires a polymerase template switch, characterised by a discontinuous process unique among RNA [2–4]. The SARS-CoV-2 RNA genome is approximately 30 kb and encodes four structural proteins: nucleocapsid (N), membrane (M), envelope (E), and spike (S) proteins, and its genome encodes 16 non-structural (nsp1–nsp16) and several accessory proteins [5,6]. The SARS-CoV-2 virus initiates the infection of the S protein into the human body through its interaction with the human angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) [7].



At the end of 2019, coronavirus disease 2019 (COVID-19) was first identified in Wuhan, a city in the Hubei province of China [8]. Due to the rapid spread of SARS-CoV-2 and the lack of pre-existing immunity, COVID-19 has posed a great threat to public health and safety [9].

The World Health Organization (WHO) declared the outbreak of COVID-19 to be a Public Health Emergency of International Concern on 30 January 2020 and officially recognized it as a pandemic on 11 March 2020. As of 4 October 2021, SARS-CoV-2 has infected more than 234 million people and has caused more than 4.8 million deaths (WHO dashboard, <https://covid19.who.int/>, accessed 4 October 2021).

Multiple control measures have been taken by the global community to cope with the current outbreak; these include wearing a medical mask; maintaining social distancing; performing hand hygiene; and COVID-19-specific management, including remdesivir/therapeutic antibodies and dexamethasone (WHO/2019-nCoV/clinical/2020.5) [10–12]. However, confirmed cases of COVID-19 have continued to rise around the world. This has become a primary health threat for humankind and has severely impacted the economic as well as the social situation [13]. Globally, scientists have focussed on developing various types of vaccines to combat this outbreak, which include live attenuated vaccines, protein subunit vaccines, viruses-like particles (VLP), viral vector-based vaccines, DNA vaccines, mRNA vaccines, and whole inactivated vaccine candidates [14–18]. Among these, whole inactivated vaccines are the most commonly used types for human and veterinary vaccines [19]. However, variation exists in the role of these vaccines in combatting different viral proteins. The rapid spread of SARS-CoV-2 with its mutating strains during the COVID-19 pandemic reinforces the crucial need for generating efficient and safe vaccines to prevent and control the spread of the virus.

A suitable animal model for COVID-19 is critical for the preclinical evaluation of the safety and efficacy of vaccine candidates. Animal models that could adequately simulate the viral infection and its development similarly to that in humans are regarded as a perfect choice to investigate the performance of vaccines. Some of the animal models that were used earlier to assess the productiveness of vaccines in preclinical trials include mice, rats, hamsters, guinea pigs, and ferrets [19–22]. Laboratory strains of mice are not susceptible to infection with SARS-CoV-2 since mouse angiotensin-converting enzyme 2 (mACE2) is incapable of efficiently binding to the SARS-CoV-2. Several non-human primate (NHP) animal models have also been developed for the study of COVID-19 with varying susceptibility of the host to SARS-CoV-2 infection [23,24]. However, the severity level of clinical manifestations in these models only ranges from mild to moderate, which makes it difficult to assess the efficacy of vaccines. It is important that the animal models that recapitulate the severe and fatal progression evaluate the efficacy of COVID-19 vaccine candidates. Transgenic mice (K18-hACE2) expressing the human SARS-CoV-2 receptor human angiotensin-converting enzyme (hACE2) under a cytokeratin 18 (K-18) promoter are susceptible to SARS-CoV-2, and infection resulted in a lethal disease course [25,26]. Therefore, the K18-hACE2 mouse model has been useful for vaccine challenge studies.

We previously reported the isolation of the hCoV-19/Turkey/ERAGEM-001/2020 strain from a patient in Turkey with confirmed COVID-19 [24]. The whole genomic sequence and replication characteristics of the hCoV-19/Turkey/ERAGEM-001/2020 strain was described. Here, we report the preclinical development of a whole-virion inactivated SARS-CoV-2 vaccine candidate (ERUCoV-VAC). The immunogenicity of inactivated vaccine candidate ERUCoV-VAC was evaluated in BALB/c, K18-hACE2, and ferret models. The protective efficacy of ERUCOV-VAC was determined in K18-hACE2 and ferrets and safety studies using the ferret model in preclinical studies.

2. Methods

2.1. Cell and Virus

Vero E6 cells (African green monkey kidney) obtained from ATCC (CRL 1586) were maintained in Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) supplemented with 10% heat-inactivated fetal bovine serum (FBS) and 100 mM L-glutamine (Sigma-Aldrich, Darmstadt,



Germany). The hCoV-19/Turkey/ERAGEM-001/2020 strain was isolated from a patient's nasopharyngeal sample as described previously [27].

2.2. Facility and Ethics Statement

All the experiments with infectious SARS-CoV-2 were performed in a biosafety level 3 (BSL3)- and animal biosafety level 3 (ABSL3)-enhanced facility at ERAGEM. This study was approved by the Committee for Ethics on Animal Experiments (EUHADYEK/EU approval number 14/160) and the Committee for Animal Biosafety Level 3 Research (ERAGEM/EU protocol IP-3-14) of Erciyes University.

2.3. Animals

Six- to eight-week old and 12- to 14-month old female BALB/c mice were obtained from the Erciyes University Experimental Research and Application Center (DEKAM). K18-hACE2 (B6.Cg-Tg(K18-hACE2)2Prlmn/J transgenic mice) of 6 weeks old were purchased from the Jackson Laboratories (Bar Harbor, ME). The mice were maintained at 20–22 °C and a relative humidity of 50 ± 10% on a 12 h light/dark cycle, fed with rodent chow, and provided with tap water ad libitum. Male and female ferrets (*Mustela Nivalis*) that were 12 to 18 months old were purchased from Triple F Farms (Gillett, PA, USA). Animals were housed in an animal biosafety level 3 (ABSL3) enhanced facility at ERAGEM with a 12 h light/dark cycle and access to food and water in addition to environmental enrichment. Animals were monitored to ensure that they were eating, drinking, and behaving normally. Ferrets were monitored daily for care and health. Ferrets were lightly anaesthetized with ketamine (5 mg/kg), xylazine (0.5 mg/kg), and atropine (0.05 mg/kg) intramuscularly for immunization, collection of blood samples, nasal washes, and challenges with SARS-CoV-2. All animal care was conducted under the guidelines for animal experiments and performed as specified in regulation 5199, which describes animal protection and working with laboratory of animals in Turkey.

2.4. Virus Titration

The SARS-CoV-2 virus titre was determined by the tissue culture infective dose 50% (TCID₅₀) method. Briefly, Vero E6 cells (0.4×10^6 cells/mL) were seeded in 96-well plates and incubated for 18–24 h at 37 °C. Serial 10-fold dilutions of virus-containing samples were added to a 96-well culture plate and cultured for 5–7 days in a 5% CO₂ incubator at 37 °C, and cells were observed for the cytopathic effect (CPE) under a microscope. The TCID₅₀ was determined according to the Reed and the Muench methods [28].

2.5. Preparation of the Inactivated SARS-CoV-2 Vaccine

Vero E-6 cells were grown in a Nunc cell factory system (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) using DMEM containing 10% FBS. P4 viral stock was used to infect Vero E6 cells at a multiplicity of infection (MOI) 0.01. The supernatant was harvested at 72–96 h post-infection. The virus-containing supernatant was clarified by centrifugation at 3500 rpm for 20 min at 4 °C. The virus was inactivated with β-propiolactone 1:1500 (v/v) at 4 °C and was further incubated at 37 °C for 2 h. Inactivation was confirmed by the inoculation of β-propiolactone-treated samples on Vero E-6 cells. The inactivated virus was filtered using a 0.45 μm filter (Millipore-sigma) following polyethylene glycol (PEG-8000, Promega, Madison, WI, USA) precipitation. Precipitated viral supernatants were treated with 20 U/mL of benzonase (Millipore; Burlington, MA, USA) overnight at 2–8 °C to digest host cell DNA. Column chromatography (Acta avant 150) was used for the purification following a tangential flow filtration system (Millipore cogent). After sterile filtration, an inactivated whole-virion SARS CoV-2 (ERUCoV-VAC) vaccine was formulated with aluminium hydroxide adjuvant (Alhydrogel, 250 μg per dose) (InvivoGen, San Diego, CA, USA). Different antigen concentrations (2.5 μg, 3 μg, 5 μg and 6 μg) were prepared in phosphate-buffered saline (PBS) and aluminium hydroxide adjuvant.



2.6. Analysis of Viral Antigen

The protein profiles of the vaccine antigen before and after purification were determined with sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) and Western blotting (WB) analysis as described previously [27].

2.7. Animal Studies

Six- to eight-week old female BALB/c mice and 12- to 14-month old female BALB/c mice were randomly divided into 3 groups ($n = 6$ per group). Mice in groups 1–2 were immunized on days 0 and 7 with a dose of 2.5 μg or 5 μg of ERUCoV-VAC by an intraperitoneal route. Mice in group 3 were similarly injected with PBS (served as normal controls). Serum samples were collected on 7, 14, 21, and 28 days after the injection for the evaluation of SARS-CoV-2-specific humoral response.

For SARS-CoV-2 challenge and immunogenicity experiments, K18-hACE2 mice were assigned to 3 experimental groups receiving either 3 μg ($n = 13$) or 6 μg ($n = 10$) of ERUCoV-VAC at days 0 and 21. The control group ($n = 13$) was administered with PBS. Serum samples were collected on days 7, 14, 21, 28, and 35 after the injection. Spleens were isolated from K18-hACE2 with the 3 μg dose group ($n = 3$) and the control group ($n = 3$) on day 35 for the ELISPOT assay. Six weeks post-initial immunization, all 3 groups of the K18-hACE2 mice were infected with 5×10^4 TCID₅₀ of SARS-CoV-2. Animals were monitored daily for signs of disease. Three animals for each group were euthanized 3 days following the challenge. Lungs, nasal turbinates, and brains were collected for virus isolation and virus load detection. The remaining animals were monitored twice daily for clinical signs of disease throughout the experiment. The mice that lost $\geq 25\%$ of their initial body weight were humanely euthanized.

Ferrets were divided into 2 groups. Ferrets in group 1 ($n = 6$) were injected with PBS intramuscularly. Ferrets in group 2 ($n = 6$) received 6 μg of ERUCoV-VAC by intramuscular route. The ferrets were given booster injections at 3-week intervals. Serum samples were collected on days 14, 28, and 42 for evaluation of SARS-CoV-2-specific humoral response. Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were isolated from the ferrets on day 48 for the ELISPOT assay. On day 49, animals were sedated and intranasally inoculated with 5×10^5 TCID₅₀ of SARS-CoV-2. After the viral challenge, nasal wash samples were collected on days 3, 7, and 14 for virus isolation and virus load detection.

2.8. RNA Extraction and SARS-CoV-2 Viral RNA Quantification by RT-qPCR

Nasal wash samples were collected in a 0.5 mL viral transport medium. Lungs, brains, and nasal turbinates were weighed and homogenized in 0.5 mL DMEM supplemented with 100 U/mL penicillin and 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ streptomycin. The samples were centrifuged at $18,000 \times g$ for 10 min, and supernatants were collected. Then, RNA was extracted from 140 μL of the samples using the QIAamp viral RNA mini-kit (Qiagen). Detection of the SARS-CoV-2 virus was performed using Diagnovital (RTA Laboratories Inc, SARS-CoV-2 Real-Time PCR Kit v2.0, Istanbul, Turkey) on the Rotorgene Q thermal cycler platform (Qiagen) according to the manufacturer's instructions. Ten-fold dilutions of SARS-CoV-2 RNA standards with known copy numbers were used to construct a standard curve.

2.9. Virus Isolation from Clinical Samples

The lungs, brains, and nasal turbinates were weighed and homogenized in 0.5 mL of DMEM supplemented with 100 U/mL penicillin and 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ streptomycin. The samples were centrifuged at $18,000 \times g$ for 10 min, and supernatants were collected. The lungs, brains, nasal turbinates, and nasal wash samples were used for virus isolation. Vero-E6 cell monolayers in 24-well plates were inoculated with 100 μL of the organ supernatants and incubated for 1 h. The supernatant was removed and replaced with fresh DMEM containing 2% FBS and supplemented with 100 U/mL penicillin and 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ streptomycin. The cytopathic effect was monitored daily. The culture supernatant from the wells showing CPE was confirmed by real-time RT-PCR.



2.10. ELISA

Commercial antigens were purchased from GenScript and comprised the nucleocapsid protein (N) (Z03488) and the S1/receptor-binding domain (S1-RBD) protein (Z03501). MaxiSorp ELISA plates (Nunc) were coated with SARS-CoV-2-specific antigens, whole inactivated antigen, or S1-RBD and N at concentrations of 10 µg/mL, 4 µg/mL, and 3 µg/mL, respectively, at 100 µL/well in carbonate buffer (0.1 M Na₂CO₃; 0.1 M NaHCO₃; pH 9.4) overnight at 4 °C. Initial dilutions of the sera were 1/100 in two-fold serial dilutions. An ELISA plate was incubated at 37 °C for 1 h followed by washing with wash buffer (1X PBS + 0.05% Tween-20) four times. ELISA plates were incubated at 37 °C for 1 h with either a horseradish peroxidase (HRP)-conjugated polyclonal goat anti-mouse IgG (Southern Biotech) diluted 1:2000 or horseradish peroxidase (HRP)-conjugated polyclonal goat anti-ferret IgG (Abcam, cat no: ab112770) diluted 1:3000. The plate was washed again 4 times with wash buffer, and the ELISA was coloured with 100 µL of TMB substrate (Kementec) and placed into a dark space for 15–20 min. The plate was coloured with the peroxidase substrate solution, and the reaction was stopped by 2 M sulfuric acid. The absorbance was read at a wavelength of 450 nm (OD₄₅₀) by a spectrophotometer (Biotek ELx80). The endpoint of the antibody titre was determined with a curve fit analysis of optical density (OD) values for serially diluted sera with a cut-off value set to three times the background signal. The results were recorded as the geometric mean titre (GMT) ± the standard error (S.E.).

2.11. Micro Neutralization Test (MNT)

ERUCoV-VAC-specific neutralizing antibody was identified using a microneutralization test (MNT) as described previously [29]. The titre of the neutralising antibody was determined as the highest dilution of serum at which the infectivity was neutralised in 50% of the cells in the wells. Seropositivity was defined as a titre \geq 1/8.

2.12. ELISPOT Assay

ELISPOT assay was performed with mouse IFN-ELISpotPlus kit (Mabtech, Nacka Strand, Sweden) as previously described with minor modifications [30]. A total of 2.5×10^5 splenocytes were stimulated at 37 °C for 18 h with MOI 0.1 of the SARS-CoV-2 or controls (splenocytes from PBS-inoculated K18-hACE2 mice); culture media alone (background control); concanavalin A 10 µg/mL (Sigma) (cell viability control). IFN- γ -secreting cells were revealed by adding streptavidin-alkaline phosphatase and 5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate/nitro blue tetrazolium-plus substrate. Spots were counted under a stereomicroscope (Leica). Whole blood samples from ferrets were collected in EDTA tubes and processed using leucosep (Grenier-bio). To each well, 3×10^5 PBMCs were added and then stimulated at 37 °C for 24 h with MOI 0.1 of the SARS-CoV-2. The remaining steps of ELISPOT were performed as described above. Spot-forming units (SFUs) per million cells were represented after background subtraction from unstimulated cells.

2.13. Repeated Dose Toxicity

Repeated dose toxicity studies were performed under both national and international guidelines in compliance with OECD Principles of GLP. The study was carried out with the permission of the IDEA Local Ethics Committee of Experimental Animals. During the study, the Animal Welfare and Humanitarian Assessment Principles were followed under the EU Directives. Within the scope of the repeated dose toxicity test, an injection was made on days 0, 8, and 15. It was evaluated as a local tolerance test for 72 h after each injection. In the study, a total of 30 BALB/c mice (8-week-old, 15 females, and 15 males) and 9 ferrets (5 males and 4 females) were tested. Animals (BALB/c mice, ferret-Mustela Nivalis) were administered (per vaccine dose: 0.5 mL; total vaccine dose: 6 micrograms) via an intramuscular route with ERUCoV-VAC on days 0, 8, and 15. During the test, all animals were weighed regularly, and their feed consumption was observed. All animals were observed for mortality and clinical signs during the experimental period. The animals



were checked daily in terms of their physiological interest in the environment in terms of health parameters, general condition, feather integrity, stool forms, feed and water consumption, and cage cleaning. The weight measurements of the animals were performed periodically, and weekly weight differences were checked. Blood samples were collected under anaesthesia (xylazine-ketamine), and clinical evaluations, such as haematology and serum chemistry, using the validated biochemistry analysis method were performed. Samples for haematology and clinical biochemistry were collected on days 2 and 21 for the main groups and day 28 for the recovery groups. Animals were euthanized either on day 21 (main groups) and/or on day 28 (recovery groups), after blood sampling. Mice and ferrets were necropsied and observed macroscopically. Organs such as the brain, thymus, spleen, ovaries, uterus, heart, kidneys, testes, liver, adrenals, lungs, epididymides, and prostate with seminal vesicles and coagulating glands were weighed, and all organs were collected for microscopic examinations as per the WHO guidelines. Organs for microscopic examination were preserved in 10% neutral buffered formalin (NBF). Tissues were processed and stained with haematoxylin and eosin.

2.14. Statistical Analysis

The graphic drawing and data analysis were performed using GraphPad Prism 7.0. The Kaplan–Meier survival curve with the log-rank (Mantel–Cox) test was applied to show the survival percentage of mice. The ordinary one-way ANOVA was used to compare groups in the viral copy number and TCID₅₀/mL. For ELISA data analysis, two-way ANOVA was used for the comparison between groups. Comparison between different groups from the neutralizing antibody assay and ELISPOT was performed using a two-sided Mann–Whitney test. Two statistical methods were used for the ELISPOT data analysis, the unpaired *t*-test, and the Mann–Whitney U test. An unpaired *t*-test was used for the normal data distribution. Unlike this, the Mann–Whitney U test was used for the non-normal data distribution. To determine the significant differences between groups *p* values less than 0.05 were considered to be statistically significant where *** denotes 0.001; ** denotes 0.01; and * denotes 0.05. Error bars represent mean ± standard deviation.

3. Results

3.1. Generation of ERUCoV-VAC as a Vaccine Platform

We previously reported the isolation of the hCoV-19/Turkey/ERAGEM-001/2020 strain from a patient in Turkey with confirmed COVID-19. The hCoV-19/Turkey/ERAGEM-001/2020 strain was closely related to the Wuhan Hu-1 strain but had six more variants [27]. The genetic stability of the hCoV-19/Turkey/ERAGEM-001/2020 strain was assessed by 10 generations in Vero E-6 cells, and its whole-genome P4 and P10 stocks were sequenced by next-generation sequencing. Compared with P4, we found one synonymous mutation to correspond to the genomic position T22213C (S gene) in P10, suggesting that the hCoV-19/Turkey/ERAGEM-001/2020 strain was genetically stable (Table S1). The inoculation of P4 stock with different multiplicities of infection (MOI), 0.001, 0.005, 0.01, and 0.1, compared to Vero E6 cells resulted in 6–6.5 log₁₀ TCID₅₀/mL between 3 and 4 dpi (Figure 1a). To generate research-grade ERUCoV-VAC production, Vero E6 cells were cultured in a multi-tray cell factory system (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Then, P4 virus stock was amplified in Vero E6 cells at an MOI of 0.01, and the supernatant was harvested at 72–96 h post-infection by centrifugation at 3500 rpm for 20 min at 4 °C. The virus was inactivated with β-propiolactone (Invitrogen) (1:1500 (v/v)) at 4 °C for 24 h and was further incubated at 37 °C for 2 h. Inactivation was confirmed by the inoculation of β-propiolactone-treated samples on Vero E-6 cells. No cytopathic effect was observed on Vero E6 cells inoculated with the inactivated virus. The inactivated supernatant (800 mL) was concentrated and partially purified by tangential flow microfiltration following polyethylene glycol (PEG) precipitation and further purified with a dual chromatography system (Figure 1b). The purity of ERUCoV-VAC was assessed by total protein staining after separation by SDS-PAGE.



Inactivated and purified ERUCoV-VAC was recognized by anti-spike and anti-N protein antibodies in the Western blot (Figure 1c).

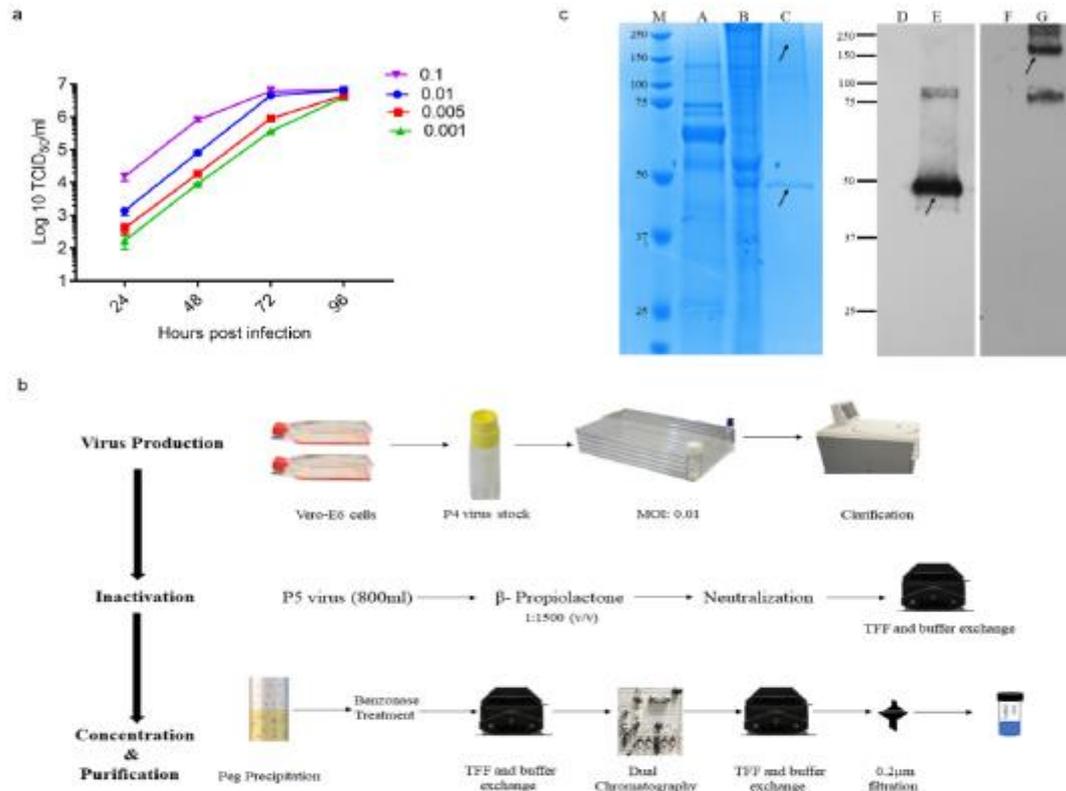


Figure 1. Preparation of ERUCoV-VAC. (a) The viral kinetics of the hCoV-19/Turkey/ERAGEM-001/2020 strain at different multiplicities of infection (MOI). (b) Flowchart of ERUCoV-VAC preparation. (c) Protein profiles of the hCoV-19/Turkey/ERAGEM-001/2020 virus strain before and after purification. Total proteins were separated by Nu-page 10% bis-tris SDS-PAGE gel. Lane 1, protein molecular weight marker (M). Lane A, uninfected Vero E-6 cells as a negative control. Lane B, Vero E-6 cells infected with the hCoV-19/Turkey/ERAGEM-001/2020 virus strain. Lane C, purified hCoV-19/Turkey/ERAGEM-001/2020 virus strain. Western blot analysis of purified hCoV-19/Turkey/ERAGEM-001/2020 virus strain probed with a human antibody to the SARS-CoV-2 nucleocapsid protein (1:2500) (GenScript; HC2003) (Lane E) or a rabbit polyclonal to SARS-CoV-2 spike glycoprotein (lane G). Uninfected cell lysates probed with the SARS-CoV-2 nucleocapsid protein (Lane D) and a rabbit polyclonal to SARS-CoV-2 spike glycoprotein (F) were used as a negative control. The arrows indicate that the bands at approximately 180 kDa and 48 kDa represent spike glycoprotein and nucleocapsid protein, respectively.

A total of 30 BALB/c mice (15 females and 15 males) and 9 ferrets (5 males and 4 females) were used for the safety evaluation of ERUCoV-VAC. Repeated injections of (N + 1 dose regimen) a high dose of an adjuvanted formulation of ERUCoV-VAC (6 µg per dose) was administered in BALB/c mice and ferrets. The general condition of the animals, feed consumption, and water intake were recorded. No abnormal situation at the injection site was observed in the examinations of oedema, swelling, sensitivity to touching the area, scab, wound, and hair integrity in all groups. We did not observe any signs of illness, fever, weight loss, or stress in the animals (Figure S1). The animals were euthanized either on day 21 (main groups) and/or on day 28 (recovery groups), after blood sampling, and were



necropsied. Histopathological examination of organs such as the livers, lungs, spleens, and kidneys of all animals administered with adjuvanted vaccine formulations was normal (Figure S2).

3.2. ERUCoV-VAC Induces Humoral Immune Responses in Old and Young BALB/c Mice

Immunogenicity of the ERUCoV-VAC was tested in the young and old BALB/c mice vaccinated intraperitoneally either low dose (2.5 µg) or high dose (5 µg) or control group (PBS), each comprising six mice. Priming and boosting were performed on days 0 and 7, respectively (Figure 2a). The levels of anti-SARS-CoV-2 IgG responses against virion-based S1-RBD protein and N protein at days 7, 14, 21, and 28 after immunization were evaluated (Figure 2b,c). The seroconversion rate in the young and old BALB/c mice reached 100% at 14 days after immunization in high- and low-dose groups. There was a strong increase in the virion and S1-RBD-based IgG responses from day 14 to 28 in the vaccinated groups. Notably, S1-RBD-specific IgG levels were similar to virion-based IgG levels and higher than those of antibodies targeting nucleocapsid protein in immunized mice, suggesting that the SARS-CoV-2 S1-RBD domain is more immunogenic than the nucleocapsid domain (Figure 2b,c).

To evaluate if the vaccine-elicited antibodies were capable of neutralizing SARS-CoV-2, the immunized mice sera were analysed by MNT in Vero E6 cells. Although the neutralizing antibody (Nab) response was detected in both immunization groups at 14 days after immunization, the geometric mean Nab titres of the high-dose group were significantly higher than those of low-dose group (Figure 2d,e). At days 21 and 28 after vaccination, the high-dose group exhibited a stronger response compared to the low-dose group in vaccinated young and old BALB/c mice groups (although not statistically significant) (Figure 2d,e). However, the mean Nab titres observed in the young mice were significantly higher ($p < 0.001$) than those observed in old mice at days 21 and 28 after vaccination (Figure 2f,g). Taken together, although old BALB/c mice had lower antibody levels than young BALB/c mice, ERUCoV-VAC is highly immunogenic and elicited an immune response in both old and young BALB/c mice.

3.3. ERUCoV-VAC Protects K18-hACE2 Transgenic Mice against a Lethal SARS-CoV-2 Challenge

In order to evaluate the protective efficacy of ERUCoV-VAC, K18-hACE2 mice were assigned to three experimental groups receiving either 3 µg ($n = 13$) or 6 µg ($n = 10$) of ERUCoV-VAC at days 0 and 21. The control group ($n = 13$) was administered with PBS. On day 14 after the second immunization, the K18-hACE2 mice were intranasally challenged with 5×10^4 TCID₅₀ of SARS-CoV-2 (Figure 3a).

The K18-hACE2 mice vaccinated with either 3 µg or 6 µg doses of ERUCoV-VAC were fully protected after challenge, and there were no obvious weight loss changes among the two vaccinated groups, whereas mice vaccinated with PBS succumbed to infection within 6 days due to $\geq 25\%$ weight loss or a poor body condition (Figure 3b,c). Three animals for each group were euthanized three days following the challenge. Lungs, nasal turbinates, and brains were collected for virus isolation and virus load detection. Viral RNA was detected in all three unvaccinated animals. The highest viral load was found in lung tissue ($\sim 10^7$ RNA copies equivalents per gram) compared to the brain ($\sim 10^6$ RNA copies equivalents per gram) and nasal turbinates ($\sim 10^4$ RNA copies equivalents per gram) (Figure 3d–f). Viral RNA in lung tissue was detectable at very low levels in two vaccinated animals, one of which was in the 3 µg dose group, and the other one was in the 6 µg dose group (Figure 3d). No viral RNA could be detected in nasal turbinates and brain tissues obtained from the vaccinated animals (Figure 3e,f). We were unable to find the infectious virus in the tissues of ERUCoV-VAC-vaccinated animals (Figure 3g–i). By contrast, the unvaccinated control animals showed high titres of replicating virus in lungs, brain tissues, and nasal turbinates: 4.8 log₁₀ TCID₅₀/g, 3.9 log₁₀ TCID₅₀/g, and 2.1 log₁₀ TCID₅₀/g, respectively (Figure 3g–i). Even though some vaccinated animals showed a low level of



viral RNA, no detectable infectious virus was found in the lungs, nasal turbinates, or brains of ERUCoV-VAC-vaccinated animals.

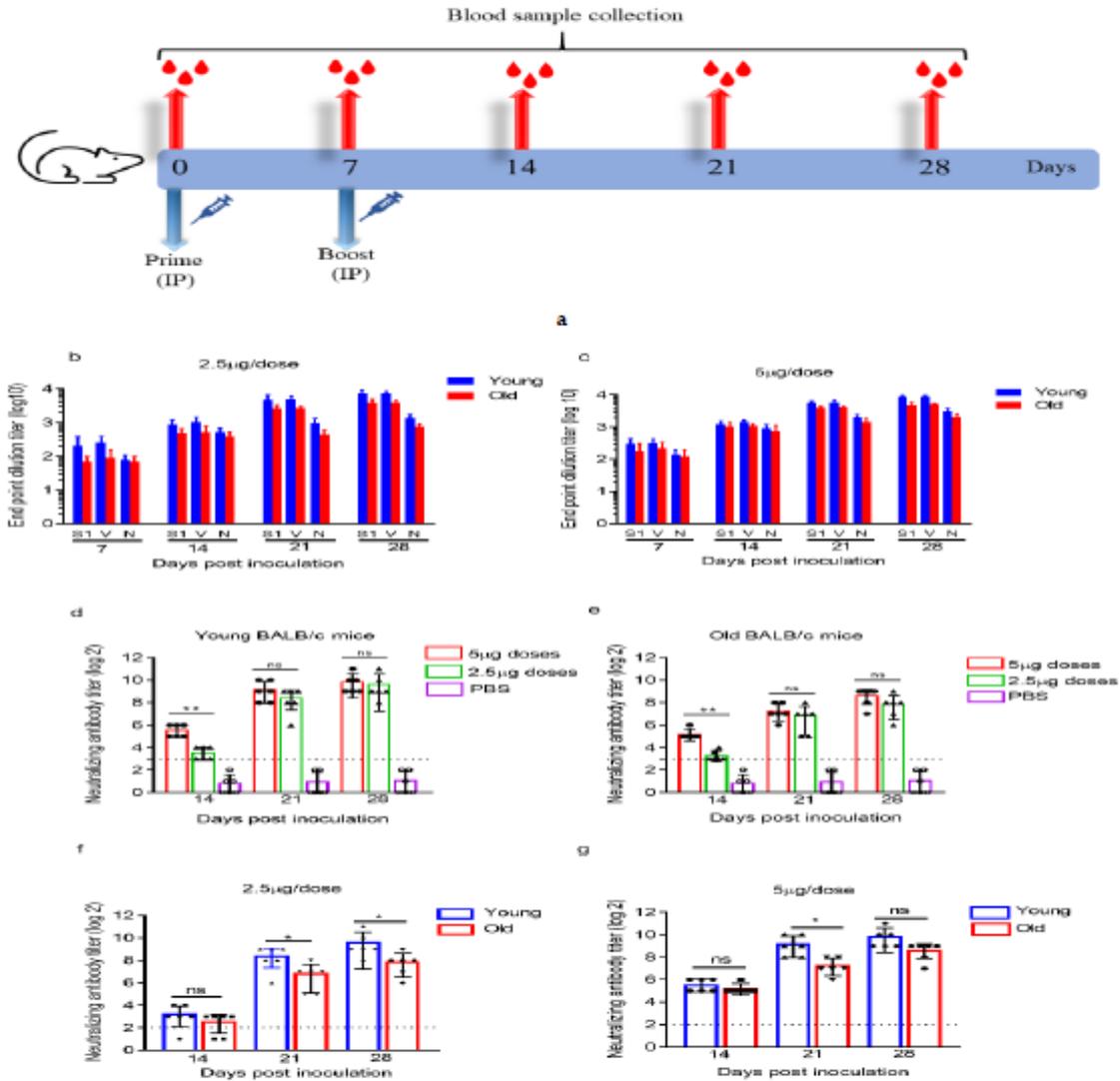


Figure 2. ERUCoV-VAC immunogenicity in old and young BALB/c mice. (a) Schematic diagram of sample collection and immunization regimens. Serum IgG titres were detected by SARS CoV-2-specific S1-RBD (S1), virion (V), and nucleocapsid (N) ELISA in young ($n = 6$) and old BALB/c ($n = 6$) mice vaccinated with 2.5 µg (b) and 5 µg (c) doses of ERUCoV-VAC. Serum Nab titres determined by microneutralizing assay in young (d) and old mice (e) vaccinated with 2.5 µg and 5 µg doses of ERUCoV-VAC. Comparison of serum Nab titres in young and old BALB/c mice vaccinated with 2.5 µg (f) and 5 µg (g) doses of ERUCoV-VAC. The statistical significance was assessed using a two-way ANOVA test and a Mann-Whitney test between groups; p values less than 0.01 were considered to be statistically significant where ** denotes 0.01; and * denotes 0.05; ns: not significant. Error bars represent mean \pm standard deviation. The dotted line illustrates the highest value measured in the normal control group.



We detected the S1-RBD and virion antibody titres in all vaccinated K18-hACE2 one week after the first immunization. After a booster dose, antibody titres in both immunization groups increased gradually (Figure 4a). The neutralizing antibodies in the vaccinated animals were detectable at week 2 after the first immunization. As expected, the neutralizing antibody response markedly increased in both immunization groups after the second immunization (Figure 4b).

Next, we evaluated the T-cell responses in K18-hACE2 mice immunized with 3 µg of ERUCoV-VAC. On day 35 post-immunization, SARS CoV-2-specific T cells were re-stimulated with the live virus in vitro and analysed for secreting IFN-gamma by enzyme-linked immunospot (ELISPOT). The results demonstrated that T cells secreting gamma interferon (IFN γ) from K18-hACE2 mice immunized with ERUCoV-VAC had higher IFN γ responses than the control group (Figure 4c).

Collectively, these data show that two doses of ERUCoV-VAC-induced humoral and cellular immune responses led to the protection of K18-hACE2 mice from a lethal SARS-CoV-2 challenge.

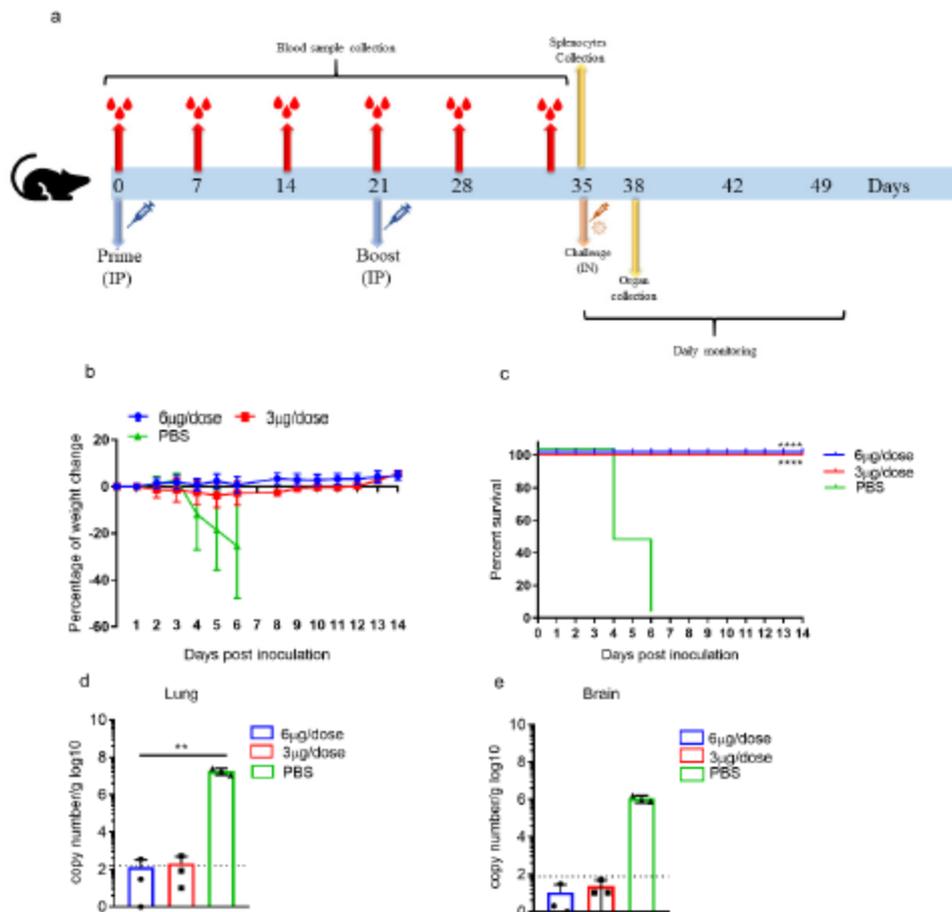


Figure 3. Cont.

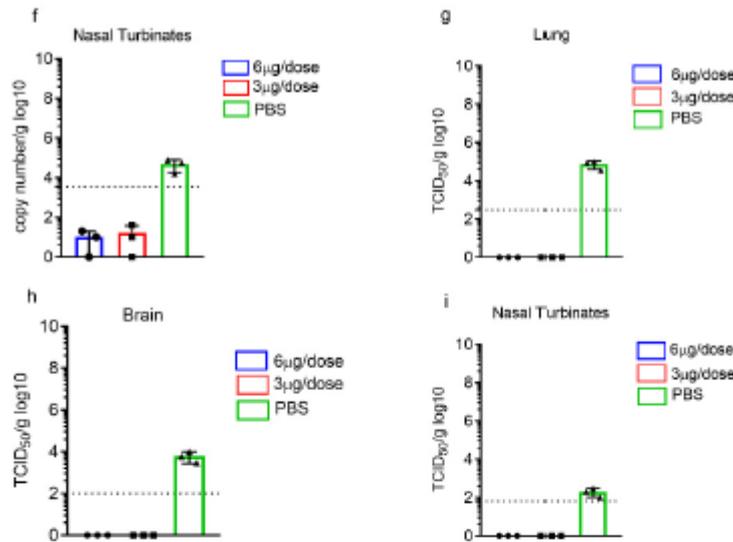


Figure 3. Protective efficacy of ERUCoV-VAC in K18-hACE2 transgenic mice. (a) Scheme of sample collection, immunization regimens, and SARS CoV-2 challenge. Groups of K18-hACE2 transgenic mice immunized on days 0 and 21 with doses of 3 µg ($n = 13$) or 6 µg ($n = 10$) of ERUCoV-VAC or with a placebo ($n = 13$) via the intraperitoneal route. The K18-hACE2 mice ($n = 10$ per group) were challenged at 2 weeks after the second immunization with 5×10^4 TCID₅₀ of SARS-CoV-2 in a volume of 60 µL by the intranasal route. Bodyweight (b) and survival (c) were evaluated according to the indicated timeline. The K18-hACE2 transgenic mice that lost $\geq 25\%$ of their initial body weight were humanely euthanized. On day 3 after the challenge, three K18-hACE2 transgenic mice in each group were euthanized, and lungs, brains, and nasal turbinates were collected for qPCR and virus titration via TCID₅₀ assay. qPCR was performed by targeting viral N gene for lungs (d), brains (e), and nasal turbinate (f) using a Diagnostival real-time PCR kit. A standard curve was generated using a viral RNA. Ten-fold dilutions of viral RNA were prepared, and negative control samples were included in each assay. The Ct value for each sample was converted into log₁₀ viral copies/g tissue according to the standard curve. The dotted line indicates the highest value measured in the normal control group, which were 2.16 log₁₀, 1.75 log₁₀, and 3.35 log₁₀ N copy number/g in the lungs, brains, and nasal turbinates, respectively. Live virus titres of the lungs (g), brains (h), and nasal turbinates (i) were determined via TCID₅₀ assay at day 3 post-challenge. The statistical significance was assessed using a two-way ANOVA test, and p values less than 0.01 were considered to be statistically significant where ** denotes 0.01. Error bars represent mean \pm standard deviation.

3.4. ERUCoV-VAC Reduces Upper Respiratory Tract SARS-CoV-2 Infection in Ferrets

Ferrets are naturally susceptible to human respiratory viruses and have been used as a model for diseases caused by the influenza virus, the respiratory syncytial virus, and the Nipah virus [31]. Recently, some studies have demonstrated that ferrets are a suitable mammalian model for SARS CoV-2, which efficiently replicates in its upper respiratory tracts [32,33]. To examine whether the ERUCoV-VAC can induce protective immunity in the upper respiratory tracts of ferrets, the animals were divided into two groups. Ferrets in group 1 ($n = 6$) were injected with PBS intramuscularly. Ferrets in group 2 ($n = 6$) received 6 µg of ERUCoV-VAC via the intramuscular route. The ferrets were given booster injections at 3-week intervals (Figure 5a). The ability of ERUCoV-VAC to induce antibody and T-cell responses was analysed by ELISA, microneutralization, and IFN- γ ELISPOT assay. As shown in Figure 5b,c, all vaccinated ferrets produced S1-RBD- and virion-specific serum IgG antibodies and NAbs at week 4 after the second immunization. SARS-CoV-2-specific cellular responses were assessed in vaccinated animals by IFN- γ ELISPOT. The IFN- γ response of T cells in ferrets inoculated with ERUCoV-VAC was significantly higher than that of inoculated ferrets in the PBS-immunized group (Figure 5d). These ferrets were



challenged intranasally with 5×10^5 TCID₅₀ of SARS-CoV-2 at week 4 after the second immunization. The animals did not show any symptoms, except that some ferrets in the control group displayed reduced activity. No weight changes were observed for all ferrets throughout the time course. Nasal washes were taken at days 3, 7, and 14 dpi for TCID₅₀ assays and viral load analysis of SARS-CoV-2 by qPCR. Furthermore, three out of six vaccinated ferrets showed viral titres via TCID₅₀ at 3 dpi (Figure 5e). No virus titres were obtained in the nasal washes from the vaccinated animals via TCID₅₀ at 7 and 14 dpi (Figure 5e). Even though all vaccinated ferrets showed SARS CoV-2 RNA at day 3 post-challenge, a significant reduction in SARS CoV-2 RNA levels was determined at 7 dpi (Figure 5f). By contrast, viral titres were obtained via TCID₅₀ from all the infected control ferrets at day 3 dpi (Figure 5e). Additionally, two out of six infected control ferrets showed viral titres at day 7 dpi, even though all animals had high SARS CoV-2 RNA levels (Figure 5e,f). At day 14 dpi, no infectious virus or SARS CoV-2 RNA was found in any of the infected control ferrets (Figure 5e,f). Taken together, the rate of viral clearance in the upper respiratory tracts of ferrets immunized with ERUCoV-VAC was much greater than that of control animals, suggesting that ERUCoV-VAC provided immune protection in the ferrets.

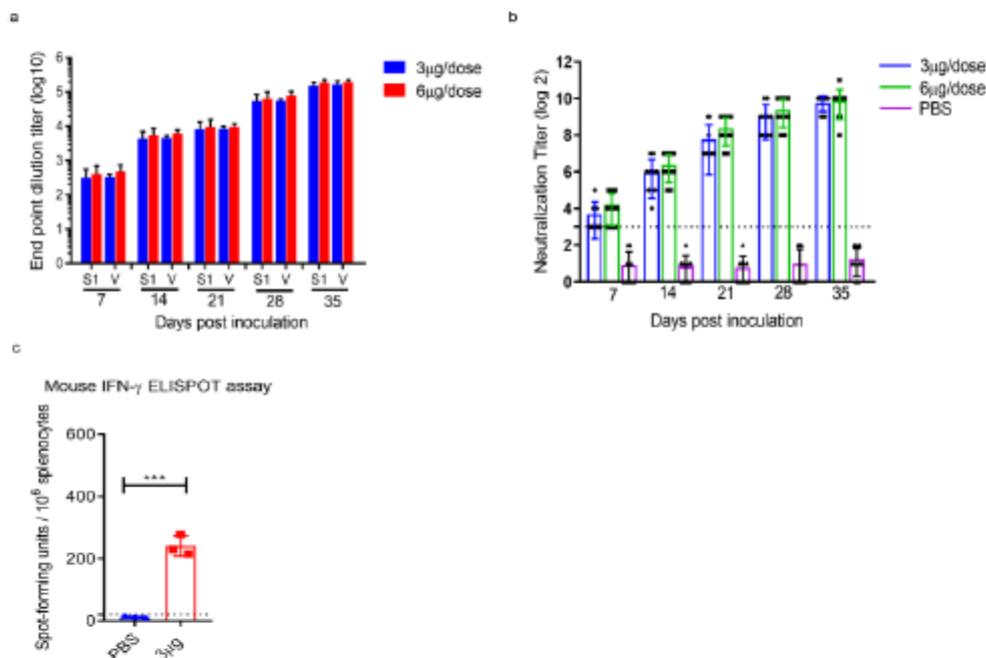


Figure 4. ERUCoV-VAC immunogenicity in K18-hACE2 transgenic mice. (a) Serum IgG titres were detected by SARS CoV-2 specific S1-RBD (S1) and virion (V) ELISA in vaccinated with 3 µg and 6 µg doses of ERUCoV-VAC in K18-hACE2 transgenic mice. (b) Serum Nab titres determined by microneutralizing assay in K18-hACE2 transgenic mice vaccinated with 3 µg and 6 µg doses of ERUCoV-VAC. (c) Cellular immune responses in 3 µg dose group ($n = 3$) and control group ($n = 3$) were analysed at day 35 following first immunization by an IFN- γ -based ELISPOT assay. The statistical significance was assessed using a two-way ANOVA test and unpaired t -test (ELISPOT); p values less than 0.01 were considered to be statistically significant where *** denotes 0.001; ns: not significant. Error bars represent mean \pm standard deviation. The dotted line indicates the highest value measured in the normal control group.

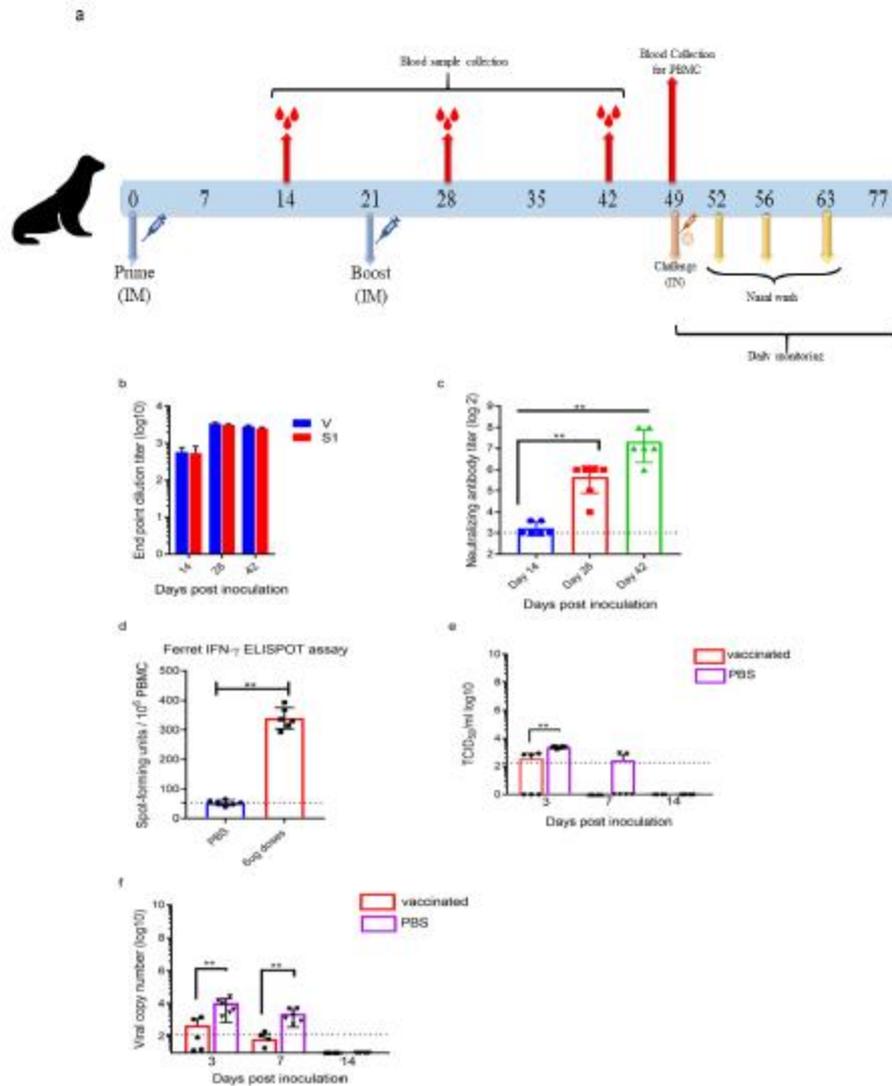


Figure 5. Immune responses and protective efficacy of ERUCoV-VAC in ferrets. (a) Scheme of sample collection, immunization regimens, and SARS CoV-2 challenge. Groups of ferrets ($n = 6$) immunized on days 0 and 21 with $6 \mu\text{g}$ of ERUCoV-VAC or with a PBS ($n = 6$) via the intramuscular route. The ferrets were challenged 4 weeks after the second immunization with 5×10^5 TCID₅₀ of SARS-CoV-2 by the intranasal route. (b) Serum IgG titres were detected by SARS CoV-2-specific S1-RBD (S1) and virion (V) ELISA in ferrets vaccinated with a $6 \mu\text{g}$ dose of ERUCoV-VAC. (c) Serum Nab titres determined by microneutralizing assay in ferrets vaccinated with a $6 \mu\text{g}$ dose of ERUCoV-VAC. (d) Cellular immune responses in the $6 \mu\text{g}$ dose group ($n = 6$) and control group ($n = 6$) were analysed on day 28 following the second immunization by an IFN- γ -based ELISPOT assay. On day 28 after the second immunization, a total of 12 ferrets, both vaccinated ($n = 6$) and unvaccinated ($n = 6$), were intranasally challenged with 5×10^5 TCID₅₀ of SARS-CoV-2. Live virus titres (e) and viral load of SARS CoV-2 (f) in nasal washes obtained from ferrets according to the indicated timeline after challenge. The dotted line indicates the highest value measured in the normal control group, which was $2.125 \log_{10}$ N copy number/mL in the nasal washes. The statistical significance was assessed using a Mann–Whitney test; p values less than 0.01 were considered to be statistically significant where ** denotes 0.01; ns: not significant. Error bars represent mean \pm standard deviation.



4. Discussion

The development of a safe and effective vaccine to protect against COVID-19 is a global health priority due to the current high rate of disease transmission and the high number of hospitalizations and deaths that threaten to overwhelm health systems in many countries [18]. The first genome sequence of SARS-CoV-2 was published on 11 January 2020, stimulating outstanding efforts in the development of various vaccine candidates against the disease [34]. According to WHO, on 1 October 2021, there were 123 candidate vaccines in human clinical trials and 194 candidates in preclinical development worldwide (<https://covid19.who.int>, accessed 4 October 2021). Several vaccines have subsequently been granted emergency authorization for use in humans, which represents a major milestone in the fight against the COVID-19 pandemic [35]. Most of these vaccines are based on viral vectors (e.g., adenovirus, University of Oxford/AstraZeneca, Gamaleya Sputnik V, and Johnson & Johnson), mRNA (Moderna and Pfizer-BioNTech), or whole inactivated (Sinovac Biotech and Sinopharm) vaccines. However, worldwide access to these vaccines is limited, particularly in low-income or developing countries, due to extreme cold-chain requirements, high costs, and an insufficient supply of the SARS-CoV-2 vaccines [36,37]. Therefore, additional SARS-CoV-2 vaccines are needed to meet the global demand. Most of the current SARS-CoV-2 vaccines are based on the spike (S) protein to elicit an immune response against SARS-CoV-2 [7,38,39]. However, mutations in the S protein lead to new variants of SARS-CoV-2 that become dominant worldwide, including B.1.1.7 (Alpha), B.1.351 (Beta), P.1 (Gamma), and B.1.617.2 (Delta) lineages (www.who.int, accessed on 22 June 2021), and they have created serious concerns about the reduction in the vaccine efficacy [40–42]. An advantage of inactivated vaccines over the current SARS-CoV-2 vaccines is that the immune responses to a SARS-CoV-2-inactivated vaccine would target not only the spike protein (S) of SARS-CoV-2 but also other viral proteins, including the matrix (M), envelope (E), and nucleocapsid (N). An advantage of inactivated vaccines over the current SARS-CoV-2 vaccines is that the immune responses to a SARS-CoV-2-inactivated vaccine would target not only the spike protein (S) of SARS-CoV-2 but also other viral proteins, including the matrix (M), envelope (E), and nucleocapsid (N). Although this ensures a broader response, it is also important for considering the risks of antibody-dependent enhancement (ADE) of disease caused by coronaviruses. Regarding the mechanism of the ADE, immune complexes formed between the virus and non-neutralising antibodies, and poorly neutralising antibodies bind to receptor molecules called Fcγ receptors (FcγRs), which are expressed broadly on monocytes and macrophages. This interaction leads to the internalization of the virus particle to enter the cell [43]. SARS-CoV vaccination studies in animal models have produced widely varying results in terms of ADE and immunopathology. It has been shown that antibodies produced by proteins such as nucleocapsid trigger the production of non-neutralising antibodies that could favour the ADE mechanism, which was also observed for SARS-CoV and MERS-CoV in animal models [44,45]. Wang et al. demonstrated that ADE is mainly induced by diluted antibodies against spike proteins rather than nucleocapsid protein [46]. In contrast, Luo et al. showed that rhesus macaques vaccinated with an inactivated SARS-CoV vaccine induced a low titre of neutralising antibodies and did not show higher levels of lung pathology when compared to placebo controls [47]. A recent study reported that the Chinese rhesus monkey was used as an animal model to assess the relationship between ADE and the neutralising antibody titre induced by the SARS vaccine, which encodes the complete SARS-CoV viral spike protein vector. They found a positive correlation between the amount of neutralising antibody in serum and the degree of pathological injury in the lungs [48]. Based on observations, it is reasonable to consider that SARS-CoV-2 vaccines may cause ADE. Although SARS-CoV-2 vaccines have not been associated with antibody enhancement disease in either preclinical or clinical studies, we cannot ignore the ADE risk for SARS-CoV-2 antibodies [49,50].

Inactivated vaccines against SARS-CoV-2, such as BBIBP-CorV (Sinopharm Beijing), inactivated vaccine WIBP (Sinopharm Wuhan), Coronavac (Sinovac), and BBV152 (Bharat



Biotech), have been approved for emergency use in several nations [18,51]. Moreover, inactivated vaccines have been widely used for the prevention of viral diseases, such as polio, influenza, hepatitis A, and rabies [52]. The safety profile and effectiveness of well-characterised Vero cell-based inactivated vaccines make this an attractive platform for rapid vaccine development and the deployment of COVID-19 [20,21,52–54]. Here, we present the preclinical immunogenicity, protective efficacy, and safety evaluation of an inactivated SARS-CoV-2 vaccine candidate (ERUCoV-VAC) in three animal models, BALB/c mice, transgenic mice (K18-hACE2), and ferrets.

ERUCoV-VAC was formulated with aluminium hydroxide, which is the most widely used vaccine adjuvant, with extensive safety records over the decades [53,55,56]. In this study, the safety evaluation of ERUCoV-VAC formulated in aluminium hydroxide showed no local or systemic toxic manifestations in mice and ferrets, as demonstrated by the repeated dose toxicity with no changes in body weight or body temperature (Figure S1). The aluminium adjuvant formulations were found to develop high titres of neutralizing antibodies by mechanisms that are obscured. Reports propose that they benefit the antibody reaction by favouring the activation and trafficking of antigen-presenting cells to lymphoid tissues in addition to triggering the inflammasome and complementing activation [57]. In general, the immune response elicited from aluminium hydroxide is primarily Th2-biased with the induction of strong humoral responses via NAb [58,59]. Neutralizing antibodies play a critical role in protection against SARS-CoV-2 infection and have been used as an immune correlate of protection in assessing vaccine efficacy [59–61]. Inactivated SARS-CoV-2 vaccine candidates have been shown to induce high levels of antigen binding and NAb titres in preclinical studies [19,62,63]. In this study, we first analysed the immunogenicity of the ERUCoV-VAC in young and old BALB/c mice. Although the old BALB/c mice had lower antigen-binding and neutralizing antibody levels than those of young BALB/c mice, ERUCoV-VAC is highly immunogenic and elicited an immune response in both old and young BALB/c mice (Figure 2). In this study, a strong neutralising antibody was also generated in all immunised K18-hACE2 mice (512–2048) and also in the ferrets (128–1024) (Figures 4b and 5c).

The protective efficacy of inactivated vaccine candidates has been evaluated in hamsters and non-human primates as larger animal studies contribute to a more reliable recognition of the immune responses in humans [64,65]. After challenges with virulent SARS CoV-2 in the vaccinated animals, studies revealed that it did not result in death but led to weight loss, symptomatic disease, and viral replication in various tissues [18,21,51]. In this study, K18-hACE2 mice were chosen to test the vaccine efficacy due to the existing evidence on its contribution to severe disease and lethality [25,26]. Our data demonstrated that two doses of either 3 µg or 6 µg of the ERUCoV-VAC elicited strong immune responses and fully protected K18-hACE2 mice from morbidity and mortality, whereas mice vaccinated with PBS succumbed to infection within 6 days (Figure 3c). Additionally, we used the ferret model to assess the safety and efficacy of ERUCoV-VAC. Ferrets are suitable animal models for respiratory viruses such as influenza and respiratory syncytial virus (RSV), as they have anatomical and physiological features of the respiratory tract that are similar to humans [31]. SARS-CoV-2 infection exhibits a mild clinical disease in ferrets [23]. Several studies clearly showed that both virus recovery and the highest viral RNA levels were detected from the nasal turbinates, indicating the main site for viral replication and transmission in the upper respiratory tract [66–69]. Therefore, ferrets provide a useful animal model for studying viral transmission and the human upper respiratory diseases. In this study, we evaluated whether the ERUCoV-VAC can induce protective immunity in the upper respiratory tracts of ferrets. Our results demonstrate that compared to non-vaccinated ferrets, a significant reduction in SARS CoV-2 RNA levels in the nasal washes was found, indicating that ERUCoV-VAC provided immune protection to the ferrets. (Figure 5f).

Inactivated vaccines are mostly associated with stimulating B lymphocytes to produce antibodies. T-cell responses generated by inactivated vaccines are weak and much less well characterized than antibody-mediated immunity [70]. In this study, the cellular immune



response elicited by ERUCoV-VAC in K18-hACE2 mice and ferrets was measured by ELISPOT assay. Notably, immunization with ERUCoV-VAC was capable of eliciting higher numbers of IFN- γ SFCs compared with the numbers observed for the non-vaccinated K18-hACE2 mice and ferrets (Figures 4c and 5d). The results of our present study were in agreement with the previous reports that inactivated vaccines against SARS-CoV-2 could induce IFN- γ responses. Ganneru et al. demonstrated that inactivated SARS-CoV-2 vaccine (BBV152) showed elevated levels of IFN- γ producing CD4+ cell population [63]. One previous study revealed that the inactivated vaccine (CoronaVac) induces low levels of IFN- γ responses in participants [71]. It has been showed that inactivated COVID-19 vaccine (BBIBP-CorV) induced T-cell responses to multiple structural proteins (S, N, and E proteins) of SARS-CoV-2 [72]. Altogether, inactivated vaccines against SARS-CoV-2 may induce T-cell responses in addition to humoral responses, and cellular responses may be involved in the protection provided by inactivated vaccines.

Hence, the vaccine was successful in demonstrating its safety profile for extensive use in humans. There are some limitations to our study. One of the safety concerns about the application of aluminium adjuvants stem from the fact that Th2-type immune responses might favour vaccine-enhanced respiratory disease (VAERD) [16]. However, studies based on these aluminium-adjuvanted coronavirus vaccines state no such lines of evidence [20,63]. Rather than exaggerating the disease, the aluminium formulations were instead observed to decrease the immunopathology when compared with other unadjuvanted coronavirus vaccines [73]. These shortcomings, however, warrant in-depth review to eliminate false interpretations. Another disadvantage is that we did not detect the lung pathology or immunohistochemistry in the animal models after infection with SARS-CoV-2. However, in spite of this limitation, we showed that three K18-hACE2 mice from the unvaccinated group showed a high viral load in their lungs, brains, and nasal turbinates ($\sim 10^7$ RNA, $\sim 10^6$ RNA, and $\sim 10^4$ RNA copy equivalents per gram, respectively) at 3 dpi (Figure 3d–f). We did not find any viral load in brain tissues or nasal turbinates from the vaccinated groups, but we found viral RNA at very low levels in the lung tissues of two vaccinated animals (Figure 3d–f), suggesting that ERUCoV-VAC restrained the virus replication in the lower respiratory tracts in K18-hACE2 mice. However, ERUCoV-VAC is yet to be assessed for further long-term protective efficacy and the cross-reactive neutralization of other SARS-CoV-2 variants.

5. Conclusions

We presented the preclinical immunogenicity, protective efficacy, and safety evaluation of a whole-virion inactivated SARS-CoV-2 vaccine candidate (ERUCoV-VAC) formulated in aluminium hydroxide in three animal models: BALB/c mice, transgenic mice (K18-hACE2), and ferrets. ERUCoV-VAC was highly immunogenic and elicited a strong immune response in BALB/c mice. In our findings, the protective efficacy of the vaccine in K18-hACE2 showed that ERUCoV-VAC induced complete protection of the mice from a lethal SARS-CoV-2 challenge. Similar viral clearance rates with the safety evaluation of the vaccine in upper respiratory tracts were also positively appreciable in the ferret models. Based on the preclinical data presented here, ERUCoV-VAC has been authorized by the Turkish Medicines and Medical Devices Agency and has now entered phase 3 clinical development (NCT04942405). The name of ERUCoV-VAC has been changed to TURKOVAC in the phase 3 clinical trial.

Supplementary Materials: The following are available online at <https://www.mdpi.com/article/10.3390/vaccines9111266/s1>, Figure S1. Body temperature and body weight of ferrets administered N + 1 (6 μ g Ag and Alhydrogel) dose regimen. Figure S2. Representative Hematoxylin and Eosin-stained liver, lung, kidney, and spleen tissues from ferrets administered with saline buffer and adjuvanted vaccine (6 μ g Ag and Alhydrogel). Table S1: List of detected variants in hCoV-19/Turkey/ERAGEM-001/2020 strain. Table S2: List of materials used in this study.



Author Contributions: A.O. conceived the study; A.O. designed the experiments. S.T.I.P., H.Y., A.F.A., G.A., M.A.U., Ö.I. and B.K. performed the experiments. A.O., S.T.I.P., H.Y. and Ö.I. analysed the data. A.O. and S.T.I.P. contributed to writing the manuscript. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: The present study was financially supported by Health Institutes of Turkey (TUSEB) (Project No: 2020-AG/Ar-Ge ID-7112) and the Erciyes University Scientific Research Foundation (Project No: TSG-2019-9644). The funders had no role in the study design, data collection and analysis, the decision to publish, or in the preparation of the manuscript.

Institutional Review Board Statement The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki and approved by the Committee for Ethics on Animal Experiments (EUHADYEK/EU approval number 14/160) and the Committee for Animal Biosafety Level 3 Research (ERAGEM/EU protocol IP-3-14) of Erciyes University.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: The data that support the findings of this study are available on request from the corresponding author.

Conflicts of Interest: A.O., S.T.I.P., H.Y., M.A.U., and G.A. named inventors on patent applications covering inactivated COVID-19 vaccine development.

References

1. Masters, P.S.; Perlman, S. Coronaviridae. In *Fields Virology*; Knipe, D.M., Howley, P.M., Eds.; Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia, PA, USA, 2013.
2. Sola, I.; Almazan, F.; Zuniga, S.; Enjuanes, L. Continuous and discontinuous RNA synthesis in coronaviruses. *Ann. Rev. Virol.* **2015**, *2*, 265–288. [\[CrossRef\]](#)
3. Ozdarendeli, A.; Ku, S.; Rochat, S.; Williams, G.D.; Senanayake, S.D.; Brian, D.A. Downstream sequences influence the choice between a naturally occurring noncanonical and closely positioned upstream canonical heptameric fusion motif during bovine coronavirus subgenomic mRNA synthesis. *J. Virol.* **2001**, *75*, 7362–7374. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
4. Wu, H.-Y.; Ozdarendeli, A.; Brian, D.A. Bovine coronavirus 5'-proximal genomic acceptor hotspot for discontinuous transcription is 65 nucleotides wide. *J. Virol.* **2006**, *80*, 2183–2193. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
5. Kumar, S.; Nyodu, R.; Maurya, V.K.; Saxena, S.K. Morphology, genome organization, replication, and pathogenesis of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). In *Coronavirus Disease 2019 (COVID-19 23)*; Springer: Singapore, 2020.
6. Mañano, G.; Farthing, R.J.; Lale-Farjat, S.L.M.; Bergeron, J.R.C. Structural characterization of SARS-CoV-2: Where we are, and where we need to be. *Front. Mol. Biosci.* **2020**, *7*, 344. [\[CrossRef\]](#)
7. Huang, Y.; Yang, C.; Xu, X.; Xu, W.; Liu, S. Structural and functional properties of SARS-CoV-2 spike protein: Potential antiviral drug development for COVID-19. *Acta Pharm. Sin.* **2020**, *41*, 1141–1149. [\[CrossRef\]](#)
8. Zhu, N.; Zhang, D.; Wang, W.; Li, X.; Yang, B.; Song, J.; Zhao, X.; Huang, B.; Shi, W.; Lu, R.; et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N. Engl. J. Med.* **2020**, *382*, 727–733. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
9. Gralinski, L.E.; Menachery, V.D. Return of the Coronavirus: 2019-nCoV. *Viruses* **2020**, *12*, 135. [\[CrossRef\]](#)
10. Beigel, J.H.; Tomashek, K.M.; Dodd, L.E.; Mehta, A.K.; Zingman, B.S.; Kalil, A.C.; Hohmann, E.; Chu, H.Y.; Luetkemeyer, A.; Kline, S.; et al. Remdesivir for the treatment of Covid-19—final report. *N. Engl. J. Med.* **2020**, *383*, 1813–1826. [\[CrossRef\]](#)
11. Pan, X.; Dong, L.; Yang, N.; Chen, D.; Peng, C. Potential drugs for the treatment of the novel coronavirus pneumonia (COVID-19) in China. *Virus Res.* **2020**, *286*, 198057. [\[CrossRef\]](#)
12. RECOVERY Collaborative Group; Horby, P.; Lim, W.S.; Emberson, J.R.; Mafham, M.; Bell, J.L.; Linsell, L.; Staplin, N.; Brightling, C.; Ustianowski, A.; et al. Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19. *N. Engl. J. Med.* **2021**, *384*, 693–704. [\[PubMed\]](#)
13. Nicola, M.; Alsaifi, Z.; Sohrabi, C.; Kerwan, A.; Al-Jabir, A.; Iosifidis, C.; Agha, M.; Agha, R. The socio-economic implications of the coronavirus pandemic (COVID-19): A review. *Int. J. Surg.* **2020**, *78*, 185–193. [\[CrossRef\]](#)
14. Zhao, J.; Zhao, S.; Ou, J.; Zhang, J.; Lan, W.; Guan, W.; Wu, X.; Yan, Y.; Zhao, W.; Wu, J.; et al. COVID-19: Coronavirus Vaccine Development Updates. *Front. Immunol.* **2020**, *11*, 602256. [\[CrossRef\]](#)
15. Burton, D.R.; Walker, L.M. Rational Vaccine Design in the Time of COVID-19. *CdL Host Microbe.* **2020**, *27*, 695–698. [\[CrossRef\]](#)
16. Graham, B.S. Rapid COVID-19 vaccine development. *Science* **2020**, *368*, 945–946. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
17. Bhatta, M.; Nandi, S.; Dutta, S.; Saha, M.K. Coronavirus (SARS-CoV-2): A systematic review for potential vaccines. *Hum. Vaccin. Immunother.* **2021**. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
18. Huang, H.Y.; Wang, S.H.; Tang, Y.; Sheng, W.; Zuo, C.J.; Wu, D.W.; Fang, H.; Du, Q.; Li, N. Landscape and progress of global COVID-19 vaccine development. *Hum. Vaccin. Immunother.* **2021**, *17*, 3276–3280. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
19. Kandeil, A.; Mostafa, A.; Hegazy, R.R.; El-Shesheny, R.; El Taweel, A.; Gomaa, M.R.; Shehata, M.; Elbaset, M.A.; Kayed, A.E.; Mahmoud, S.H. Immunogenicity and Safety of an Inactivated SARS-CoV-2 Vaccine: Preclinical Studies. *Vaccines* **2021**, *9*, 214. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)



20. Wang, H.; Zhang, Y.; Huang, B.; Deng, W.; Quan, Y.; Wang, W.; Xu, W.; Zhao, Y.; Li, N.; Zhang, J.; et al. Development of an Inactivated Vaccine Candidate, BBIBP-CorV, with Potent Protection against SARS-CoV-2. *Cel* **2020**, *182*, 713–721. [CrossRef]
21. Gao, Q.; Bao, L.; Mao, H.; Wang, L.; Xu, K.; Yang, M.; Li, Y.; Zhu, L.; Wang, N.; Lv, Z. Development of an inactivated vaccine candidate for SARS-CoV-2. *Science* **2020**, *369*, 77–81. [CrossRef]
22. Tostanoski, L.H.; Wegmann, F.; Martinot, A.J.; Loos, C.; McMahan, K.; Mercado, N.B.; Yu, J.; Chan, C.N.; Bondoc, S.; Starke, C.E. Ad26 vaccine protects against SARS-CoV-2 severe clinical disease in hamsters. *Nat. Med.* **2020**, *26*, 1694–1700. [CrossRef]
23. Munoz-Fontela, C.; Dowling, W.E.; Funnell, S.G.P.; Gsell, P.-S.; Riveros-Balta, A.X.; Albrecht, R.A.; Andersen, H.; Baric, R.S.; Carroll, M.W.; Cavaleri, M. Animal models for COVID-19. *Nature* **2020**, *586*, 509–515. [CrossRef] [PubMed]
24. Pandey, K.; Acharya, A.; Mohan, M.; Ng, C.L.; Reid, S.P.; Byrareddy, S.N. Animal models for SARS CoV 2 research: A comprehensive literature review. *Transbound. Emerg. Dis.* **2021**, *68*, 1868–1885. [CrossRef] [PubMed]
25. Winkler, E.S.; Bailey, A.L.; Kafai, N.M.; Nair, S.; McCune, B.T.; Yu, J.; Fox, J.M.; Chen, R.E.; Earnest, J.T.; Keeler, S.P. SARS-CoV-2 infection of human ACE2-transgenic mice causes severe lung inflammation and impaired function. *Nat. Immunol.* **2020**, *21*, 1327–1335. [CrossRef] [PubMed]
26. Yinda, C.K.; Port, J.R.; Bushmaker, T.; Offei Owusu, I.; Purushotham, J.N.; Avanzato, V.A.; Fischer, R.J.; Schulz, J.E.; Holbrook, M.G.; Hebner, M.J. K18-hACE2 mice develop respiratory disease resembling severe COVID-19. *PLoS Pathog.* **2021**, *17*, e1009195. [CrossRef] [PubMed]
27. Pavel, S.T.I.; Yetiskin, H.; Aydin, G.; Holyavkin, C.; Uygut, M.A.; Dursun, Z.B.; Celik, L.; Cevik, C.; Ozdarendeli, A. Isolation and characterization of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 in Turkey. *PLoS ONE* **2020**, *15*, e0238614. [CrossRef]
28. Reed, L.J.; Muench, H. A simple method of estimating fifty per cent endpoints. *Am. J. Epidemiol.* **1938**, *27*, 493–497. [CrossRef]
29. Mamedov, T.; Yuksele, D.; Ilgin, M.; Gurbuzaslan, I.; Gulec, B.; Yetiskin, H.; Uygut, M.A.; Pavel, S.T.I.; Ozdarendeli, A.; Mammadova, G.; et al. Plant-Produced Glycosylated and In Vivo Deglycosylated Receptor Binding Domain Proteins of SARS-CoV-2 Induce Potent Neutralizing Responses in Mice. *Viruses* **2021**, *13*, 1595. [CrossRef]
30. Pavel, S.T.I.; Yetiskin, H.; Kalkan, A.; Ozdarendeli, A. Evaluation of the cell culture based and the mouse brain derived inactivated vaccines against Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in transiently immune-suppressed (IS) mouse model. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2020**, *23*, e0008834. [CrossRef]
31. Enkirch, T.; Von Messling, V. Ferret models of viral pathogenesis. *Virology* **2015**, *479*, 259–270. [CrossRef]
32. Marsh, G.A.; McAuley, A.J.; Au, G.G.; Riddell, S.; Layton, D.; Singanallur, N.B.; Layton, R.; Payne, J.; Durr, P.A.; Bender, H. ChAdOx1 nCoV-19 (AZD1222) vaccine candidate significantly reduces SARS-CoV-2 shedding in ferrets. *mj Vaccin.* **2021**, *6*, 67. [CrossRef] [PubMed]
33. Kim, Y.-I.; Kim, D.; Yu, K.-M.; Seo, H.D.; Lee, S.-A.; Casel, M.A.B.; Jang, S.-G.; Kim, S.; Jung, W.; Lai, C.-J. Development of Spike Receptor-Binding Domain Nanoparticles as a Vaccine Candidate against SARS-CoV-2 Infection in Ferrets. *mBio* **2021**, *12*, e00230-12. [CrossRef]
34. Wu, F.; Zhao, S.; Yu, B.; Chen, Y.-M.; Wang, W.; Song, Z.-G.; Hu, Y.; Tao, Z.-W.; Tian, J.-H.; Pei, Y.-Y. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature* **2020**, *579*, 265–269. [CrossRef]
35. Xiaoni, C.; Pengxiang, W.; Zhun, W. Emergency use of COVID-19 vaccines recommended by the World Health Organization (WHO) as of June 2021. *Drug Discov.* **2021**, *15*, 222–224.
36. Richman, D.D. COVID-19 vaccines: Implementation, limitations and opportunities. *Glob. Health Med.* **2021**, *3*, 1–5. [CrossRef]
37. Massinga Loembé, M.; Nkengasong, J.N. COVID-19 vaccine access in Africa: Global distribution, vaccine platforms, and challenges ahead. *Immunity* **2021**, *54*, 1353–1362. [CrossRef] [PubMed]
38. Tai, W.; He, L.; Zhang, X.; Pu, J.; Voronin, D.; Jiang, S.; Zhou, Y.; Du, L. Characterization of the receptor-binding domain (RBD) of 2019 novel coronavirus: Implication for development of RBD protein as a viral attachment inhibitor and vaccine. *Cel. Mol. Immunol.* **2020**, *17*, 613–620. [CrossRef] [PubMed]
39. Forri, G.; Mantovani, A. COVID-19 vaccines: Where we stand and challenges ahead. *Cel. Death Differ.* **2021**, *28*, 626–639. [CrossRef] [PubMed]
40. Chen, R.E.; Zhang, X.; Case, J.B.; Winkler, E.S.; Liu, Y.; VanBlargan, L.A.; Liu, J.; Errico, J.M.; Xie, X.; Suryadevara, N.; et al. Resistance of SARS-CoV-2 variants to neutralization by monoclonal and serum-derived polyclonal antibodies. *Nat. Med.* **2021**, *27*, 717–726. [CrossRef]
41. Wang, G.-L.; Wang, Z.-Y.; Duan, L.-J.; Meng, Q.-C.; Jiang, M.-D.; Cao, J.; Yao, L.; Zhu, K.-L.; Cao, W.-C.; Ma, M.-J. Susceptibility of Circulating SARS-CoV-2 Variants to Neutralization. *N. Engl. J. Med.* **2021**, *384*, 2354–2356. [CrossRef]
42. Wang, P.; Nair, M.S.; Liu, L.; Iketani, S.; Luo, Y.; Guo, Y.; Wang, M.; Yu, J.; Zhang, B.; Kwong, P.D.; et al. Antibody resistance of SARS-CoV-2 variants B.1.351 and B.1.1.7. *Nature* **2021**, *593*, 130–135. [CrossRef]
43. Kulkarni, R. Antibody-Dependent Enhancement of Viral Infections. In *Dynamics of Immune Activation in Viral Diseases*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2019; pp. 9–41.
44. Deming, D.; Sheahan, T.; Heise, M.; Yount, B.; Davis, N.; Sims, A.; Suthar, M.; Harkema, J.; Whitmore, A.; Pickles, R.; et al. Vaccine efficacy in senescent mice challenged with recombinant SARS-CoV bearing epidemic challenged with recombinant SARSCoV bearing epidemic and zoonotic spike variants. *PLoS. Med.* **2006**, *3*, e525. [CrossRef] [PubMed]
45. Yasui, F.; Kai, C.; Kitabatake, M.; Inoue, S.; Yoneda, M.; Yokochi, S.; Kase, R.; Sekiguchi, S.; Morita, K.; Hishima, T.; et al. Prior immunization with severe acute respiratory syndrome (SARS)-associated coronavirus (SARS-CoV) nucleocapsid protein causes severe pneumonia in mice infected with SARS-CoV. *J. Immunol.* **2008**, *9*, 6337–6348. [CrossRef] [PubMed]



46. Wang, S.F.; Tseng, S.P.; Yen, C.H.; Yang, J.Y.; Tsao, C.H.; Shen, C.W.; Chen, K.H.; Liu, F.T.; Liu, W.T.; Chen, Y.M.; et al. Antibody-dependent SARS coronavirus infection is mediated by antibodies against spike proteins. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2014**, *451*, 208–214. [CrossRef]
47. Luo, F.; Liao, F.L.; Wang, H.; Tang, H.B.; Yang, Z.Q.; Hou, W. Evaluation of antibody-dependent enhancement of SARS-CoV infection in rhesus macaques immunized with an inactivated SARS-CoV vaccine. *Virology* **2018**, *518*, 201–204. [CrossRef]
48. Liu, L.; Wei, Q.; Lin, Q.; Fang, J.; Wang, H.; Kwok, H.; Tang, H.; Nishiura, K.; Peng, J.; Tan, Z.; et al. Anti-spike IgG causes severe acute lung injury by skewing macrophage responses during acute SARS-CoV infection. *Jci Insight* **2019**, *4*, e123158. [CrossRef]
49. Kaabi, N.A.; Zhang, Y.; Xia, S.; Yang, Y.; Qahtani, M.M.A.; Abdulrazzag, N.; Nusair, M.A.; Hassani, M.; Jawad, J.S.; Abdalla, J. Effect of 2 Inactivated SARS-CoV-2 Vaccines on Symptomatic COVID-19 Infection in Adults A Randomized Clinical Trial. *JAMA* **2021**, *326*, 35–45. [CrossRef]
50. Krammer, F. SARS-CoV-2 vaccines in development. *Nature* **2020**, *586*, 516–527. [CrossRef] [PubMed]
51. Poland, G.A.; Ovsyannikova, I.G.; Kennedy, R.B. SARS-CoV-2 immunity: Review and applications to phase 3 vaccine candidates. *Lancet* **2020**, *396*, 1595–1606. [CrossRef]
52. Barnett, P.N.; Terpening, S.J.; Snow, D.; Cobb, R.R.; Kistner, O. Vero cell technology for rapid development of inactivated whole virus vaccines for emerging viral diseases. *Exp. Rev. Vaccin.* **2017**, *16*, 883–894. [CrossRef]
53. Sanders, B.; Koldijk, M.; Schuitemaker, H. Inactivated Viral Vaccines'. In *Vaccine Analysis: Strategies, Principles, and Control*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2015; pp. 45–80.
54. Ragan, L.K.; Hartson, L.M.; Dutt, T.S.; Obregon-Henao, A.; Maison, R.M.; Gordy, P.; Fox, A.; Karger, B.R.; Cross, S.T.; Kapuscinski, M.L.; et al. A Whole Virion Vaccine for COVID-19 Produced via a Novel Inactivation Method and Preliminary Demonstration of Efficacy in an Animal Challenge Model. *Vaccines* **2021**, *9*, 340. [CrossRef] [PubMed]
55. Marrack, P.; McKee, A.S.; Munks, M.W. Towards an understanding of the adjuvant action of aluminium. *Nat. Rev. Immunol.* **2009**, *9*, 287–293. [CrossRef]
56. He, P.; Zou, Y.; Hu, Z. Advances in aluminum hydroxide-based adjuvant research and its mechanism. *Hum. Vaccin. Immunother.* **2015**, *11*, 477–488. [CrossRef]
57. Ghimire, T.R. The mechanisms of action of vaccines containing aluminum adjuvants: An in vitro vs. in vivo paradigm. *Springerplus* **2015**, *4*, 181. [CrossRef]
58. Hotez, P.J.; Corry, D.B.; Strych, U.; Bottazzi, M.E. COVID-19 vaccines: Neutralizing antibodies and the alum advantage. *Nat. Rev. Immunol.* **2020**, *20*, 399–400. [CrossRef] [PubMed]
59. Robbiani, D.F.; Gaebler, C.; Muecksch, F.; Lorzeri, J.C.C.; Wang, Z.; Cho, A.; Agudelo, M.; Barnes, C.O.; Gazumyan, A.; Finkin, S.; et al. Convergent antibody responses to SARS-CoV-2 in convalescent individuals. *Nature* **2020**, *584*, 437–442. [CrossRef] [PubMed]
60. Brouwer, P.J.M.; Daniels, T.G.; van der Straten, K.; Snitselaar, J.L.; Aldon, Y.; Bangaru, S.; Torres, J.L.; Okba, N.M.A.; Claireaux, M.; Kerster, G. Potent neutralizing antibodies from COVID-19 patients define multiple targets of vulnerability. *Science* **2020**, *369*, 643–650. [CrossRef] [PubMed]
61. Baldwin, W.R.; Livengood, J.A.; Giebler, H.A.; Stovall, J.L.; Boroughs, K.L.; Sonnberg, S.; Bohning, K.J.; Dietrich, E.A.; Ong, Y.T.; Danh, H.K.; et al. Purified Inactivated Zika Vaccine Candidates Afford Protection against Lethal Challenge in Mice. *Sci. Rep.* **2018**, *8*, 16509. [CrossRef]
62. Yao, Y.-F.; Wang, Z.-J.; Jiang, R.-D.; Hu, X.; Zhang, H.-J.; Zhou, Y.-W.; Gao, G.; Chen, Y.; Peng, Y.; Liu, M.-Q. Protective Efficacy of Inactivated Vaccine against SARS-CoV-2 Infection in Mice and Non-Human Primates. *Virology* **2021**, *518*, 879–889. [CrossRef]
63. Ganneru, B.; Jogdand, H.; Daram, V.K.; Das, D.; Molugu, N.R.; Prasad, S.D.; Kannappa, S.V.; Ella, K.M.; Ravikrishnan, R.; Awasthi, A. Th1 skewed immune response of whole virion inactivated SARS CoV 2 vaccine and its safety evaluation. *Iscience* **2021**, *24*, 102298. [CrossRef]
64. Gerdtts, V.; Wilson, H.L.; Meurens, F.; van Drunen Littel-van den Hurk, S.; Wilson, D.; Walker, S.; Wheeler, C.; Townsend, H.; Potter, A.A. Large animal models for vaccine development and testing. *ILAR J.* **2015**, *56*, 53–62. [CrossRef] [PubMed]
65. Mukhopadhyay, L.; Yadav, P.D.; Gupta, N.; Mohandas, S.; Patil, D.Y.; Shete-Aich, A.; Panda, S.; Bhargava, B. Comparison of the immunogenicity & protective efficacy of various SARS-CoV-2 vaccine candidates in non-human primates. *Ind. J. Med. Res.* **2021**, *153*, 93. [CrossRef]
66. Monchatre-Leroy, E.; Lesellier, S.; Wasniewski, M.; Picard-Meyer, E.; Richomme, C.; Boue, F.; Lacote, S.; Murri, S.; Pulido, C.; Vulin, J.; et al. Hamster and ferret experimental infection with intranasal low dose of a single strain of SARS-CoV-2. *J. Gen. Virol.* **2021**, *102*, 001567. [CrossRef] [PubMed]
67. Kim, Y.I.; Kim, S.G.; Kim, S.M.; Kim, E.H.; Park, S.J.; Yu, K.M.; Chang, J.H.; Kim, E.J.; Lee, S.; Casel, M.A.B.; et al. Infection and Rapid Transmission of SARS-CoV-2 in Ferrets. *Cell Host Microbe* **2020**, *27*, 704–709. [CrossRef]
68. Everett, H.E.; Lean, F.Z.X.; Byrne, A.M.P.; van Die men, P.M.; Rhodes, S.; James, J.; Mollett, B.; Coward, V.J.; Skinner, P.; Warren, C.J.; et al. Intranasal Infection of Ferrets with SARS-CoV-2 as a Model for Asymptomatic Human Infection. *Viruses* **2021**, *13*, 113. [CrossRef]
69. Ryan, K.A.; Bewley, K.R.; Fotheringham, S.A.; Slack, G.S.; Brown, P.; Hall, Y.; Wand, N.L.; Marriott, A.C.; Cavell, B.E.; Tree, J.A.; et al. Dose-dependent response to infection with SARS-CoV-2 in the ferret model and evidence of protective immunity. *Nat. Commun.* **2021**, *12*, 81. [CrossRef]
70. Pollard, A.J.; Bijker, E.M. A guide to vaccinology: From basic principles to new developments. *Nat. Rev. Immunol.* **2021**, *21*, 83–100. [CrossRef]



71. Zhang, Y.; Zeng, G.; Pan, H.; Li, C.; Hu, Y.; Chu, K.; Han, W.; Chen, Z.; Tang, R.; Yin, W.; et al. Safety, tolerability, and immunogenicity of an inactivated SARS-CoV-2 vaccine in healthy adults aged 18–59 years: A randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1/2 clinical trial. *Lancet Infect. Dis.* **2020**, *21*, 181–192. [[CrossRef](#)]
72. Deng, Y.; Li, Y.; Yang, R.; Tan, W. SARS-CoV-2-specific T cell immunity to structural proteins in inactivated COVID-19 vaccine recipients. *Cell Mol. Immunol.* **2021**, *8*, 2040–2041. [[CrossRef](#)]
73. Hotez, P.J.; Corry, D.B.; Bottazzi, M.E. COVID-19 vaccine design: The Janus face of immune enhancement. *Nat. Rev. Immunol.* **2020**, *20*, 347–348. [[CrossRef](#)]



X: EK.3

TURKOVAC Faz 1 ve Faz 2 Makalesi “Safety and immunogenicity of an inactivated whole virion SARS-CoV-2 vaccine, TURKOVAC, in healthy adults: Interim results from randomised, double-blind, placebo-controlled phase 1 and 2 trials”

Vaccine 41 (2023) 380–390



Contents lists available at ScienceDirect

Vaccine

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



Safety and immunogenicity of an inactivated whole virion SARS-CoV-2 vaccine, TURKOVAC, in healthy adults: Interim results from randomised, double-blind, placebo-controlled phase 1 and 2 trials



Aykut Ozdarendeli^{a,b,*}, Zafer Sezer^{c,d,*}, Shaikh Terkis Islam Pavel^{a,b}, Ahmet Inal^{c,d}, Hazel Yetiskin^{a,b,2}, Busra Kaplan^{a,b,2}, Muhammet Ali Uygut^{b,2}, Adnan Bayram^e, Mumtaz Mazicioglu^{d,f}, Gamze Kalin Unuvar^g, Zeynep Ture Yuce^g, Günsu Aydın^{a,b}, Ahmet Furkan Aslan^{a,b}, Refika Kamuran Kaya^{h,h}, Rabia Cakir Koc^{h,i}, Ihsan Ates^j, Ates Kara^k

^aDepartment of Microbiology, Faculty of Medicine, Erciyes University, Kayseri, Türkiye
^bVaccine Research, Development and Application Centre (ERAGEM), Erciyes University, Kayseri, Türkiye
^cDepartment of Medical Pharmacology, Faculty of Medicine, Erciyes University, Kayseri, Türkiye
^dGood Clinical Practice Centre (IKUM), Erciyes University, Kayseri, Türkiye
^eDepartment of Anesthesiology and Resuscitation, Faculty of Medicine, Erciyes University, Kayseri, Türkiye
^fDepartment of Family Medicine, Faculty of Medicine, Erciyes University, Kayseri, Türkiye
^gDepartment of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Faculty of Medicine, Erciyes University, Kayseri, Türkiye
^hHealth Institutes of Türkiye (TUSEB), Istanbul, Türkiye
ⁱDepartment of Bioengineering, Faculty of Chemistry-Metallurgy, Yıldız Technical University, Faculty of Bioengineering, Türkiye
^jDepartment of Internal Medicine, University of Health Sciences Ankara City Hospital, Ankara, Türkiye
^kHacettepe University, Faculty of Medicine Department of Pediatrics, Pediatric Infectious Diseases, Ankara, Türkiye

ARTICLE INFO

Article history:
 Received 13 April 2022
 Received in revised form 24 October 2022
 Accepted 26 October 2022
 Available online 22 November 2022

Keywords:
 ERUCoV-VAC
 TURKOVAC
 Inactivated whole virion vaccine
 COVID-19
 SARS-CoV-2

ABSTRACT

Background: Development of safe and effective vaccine options is crucial to the success of fight against COVID-19 pandemic. Herein, we report interim safety and immunogenicity findings of the phase 1&2 trials of ERUCoV-VAC, an inactivated whole virion SARS-CoV-2 vaccine.
Methods: Double-blind, randomised, single centre, phase 1 and 2 trials included SARS-CoV-2 seronegative healthy adults aged 18–55 years (18–64 in phase 2). All participants, except the first 4 in phase 1 who received ERUCoV-VAC 3 µg or 6 µg unblinded and monitored for 7 days for safety purposes, were assigned to receive two intramuscular doses of ERUCoV-VAC 3 µg or 6 µg (an inactivated vaccine containing alhydrogel as adjuvant) or placebo 21 days apart (28 days in phase 2) according to computer-generated randomisation schemes. Both trials are registered at ClinicalTrials.gov (phase 1, NCT04691947 and phase 2, NCT04824391).
Results: Forty-four participants (3 µg [n:17], 6 µg [n:17], placebo [n:10]) in phase 1 and 250 (3 µg [n:100], 6 µg [n:100], placebo [n:50]) in phase 2 received ≥1 dose. In phase 1 trial, 25 adverse events AEs (80 % mild) occurred in 15 participants (34.1 %) until day 43. There was no dose-response relationship noted in safety events in ERUCoV-VAC recipients (p = 0.4905). Pain at injection site was the most common AE (9/44;20.5 %). Both doses of ERUCoV-VAC 3 µg and 6 µg groups were comparable in inducing SARS-CoV-2 wild-type neutralising antibody (MNT50): GMTs (95 %CI) were 8.3 (6.4–10.3) vs. 8.6 (7.0–10.2) at day 43 (p = 0.7357) and 9.7 (6.0–13.4) vs. 10.8 (8.8–12.8) at day 60 (p = 0.8644), respectively. FRNT50 confirmed MNT50 results: SARS-CoV-2 wild-type neutralising antibody GMTs (95 %CI) were 8.4 (6.3–10.5) vs. 9.0 (7.2–10.8) at day 43 (p = 0.5393) and 11.0 (7.0–14.9) vs. 12.3 (10.3–14.5) at day 60 (p = 0.8578). Neutralising antibody seroconversion rates (95 %CI) were 86.7 % (59.5–98.3) vs 94.1 % (71.3–99.8) at day 43 (p = 0.8727) and 92.8 % (66.1–99.8) vs. 100 % (79.4–100.0) at day 60 (p = 0.8873), in ERUCoV-VAC 3 µg and 6 µg groups, respectively. In phase 2 trial, 268 AEs, (67.2 % moderate in severity) occurred in 153 (61.2 %) participants. The most common local and systemic AEs were pain at injection site (23 events in 21 [8.4 %] subjects) and headache (56 events in 47 [18.8 %] subjects), respectively. Pain at

* Corresponding author at: Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Erciyes University, Kayseri, Turkey (A. Ozdarendeli), Department of Medical Pharmacology, Faculty of Medicine, Erciyes University Kayseri, Türkiye (Z. Sezer).

E-mail addresses: aozdarendeli@erciyes.edu.tr (A. Ozdarendeli), zsezer@erciyes.edu.tr (Z. Sezer).

¹ Joint first authors and corresponding authors.

² Contributed equally.

<https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2022.10.093>

0264-410X/© 2022 The Author(s). Published by Elsevier Ltd.

This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).



injection site was the only AE with a significantly higher frequency in the ERUCoV-VAC groups than in the placebo arm in the phase 2 study ($p = 0.0322$). ERUCoV-VAC groups were comparable in frequency of AEs ($p = 0.4587$). ERUCoV-VAC 3 μg and 6 μg groups were comparable neutralising antibody (MNT₅₀): GMTs (95 %CI) were 30.0 (37.9–22.0) vs. 34.9 (47.6–22.1) at day 43 ($p = 0.0666$) and 34.2 (23.8–44.5) and 39.6 (22.7–58.0) at day 60, ($p = 0.2166$), respectively. FRNT50 confirmed MNT50 results: SARS-CoV-2 wildtype neutralising antibody GMTs were 28.9 (20.0–37.7) and 30.1 (18.5–41.6) at day 43 ($p = 0.3366$) and 34.2 (23.8–44.5) and 39.6 (22.7–58.0) at day 60 ($p = 0.8777$). Neutralising antibody seroconversion rates (95 % CI) were 95.7 % (91.4–99.8) vs. 98.9 % (96.9–100.0) at day 43 ($p = 0.8710$) and 96.6 % (92.8–100.0) vs. 98.9 % (96.7–100.0) at day 60 ($p = 0.9129$) in ERUCoV-VAC 3 μg and 6 μg groups, respectively. **Conclusions:** Two-dose regimens of ERUCoV-VAC 3 μg and 6 μg 28 days both had an acceptable safety and tolerability profile and elicited comparable neutralising antibody responses and seroconversion rates exceeding 95 % at day 43 and 60 after the first vaccination.

© 2022 The Author(s). Published by Elsevier Ltd. This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

COVID-19 outbreak, caused by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2), was first reported in China [1] in December 2019 and described as a pandemic by the World Health Organization (WHO) in March 2020. [2] As of the end of February 2022, there have been over 434 million confirmed COVID-19 cases worldwide, including approximately 6 million deaths [3].

Vaccination is a well-established, cost-effective public health measure to prevent and control infectious diseases. [4–6] Therefore, development of safe, effective, and accessible vaccines has been prioritized to control the COVID-19 disease and mitigate the devastating effects of the pandemic. [6,7] Conventional approaches such as inactivated or live attenuated virus and protein-based vaccines as well as newer platforms like viral vectors, DNA and messenger RNA (mRNA), nanoparticle-based and virus-like particles have been investigated. [8].

Türkiye initiated a vaccine development programme shortly after the first COVID-19 case was seen in the country, in March 2020. ERUCoV-VAC which is a whole-virion β -propiolactone-inactivated SARS-CoV-2 vaccine adjuvanted with Alhydrogel, is one of the vaccines in this program, now known as TURKOVAC. Its pre-clinical safety and efficacy were demonstrated by its high immunogenicity in BALB/c mice, complete protection against a lethal SARS-CoV-2 challenge in transgenic mice (K18-hACE2), and positive safety profile in ferret models. [9] The clinical development programme, including the phase 1 and phase 2 trials as well as the phase 3 comparative efficacy and safety trial (NCT04942405) versus CoronaVac (Sinovac Life Sciences, Beijing, China), is ongoing. TURKOVAC received emergency use authorisation (EUA) by the Turkish Medicines and Medical Devices Agency in December 2021.

Herein, we report the interim safety and immunogenicity results of the phase 1 and phase 2 trials of two different strengths (3 μg and 6 μg) of TURKOVAC up to day 60 (month 2).

2. Methods

2.1. Study design and participants

The double-blind, randomised, parallel, placebo-controlled phase 1 and 2 clinical trials of ERUCoV-VAC (named as TURKOVAC as of phase 3) were designed by Erciyes University Hakan Çetinşaya Good Clinical Practice and Research Centre and Erciyes University Vaccine Research, Development and Application Centre (ERAGEM) and were conducted at a single centre (IKUM) in Türkiye. In both trials, the participants were allocated to receive two intramuscular injections (0.5 mL) of 3 μg or 6 μg doses of the

vaccine, or placebo (0.9 % saline) into deltoid muscle with 21- and 28- days intervals in the phase 1 and 2 trials, respectively.

SARS-CoV-2-seronegative (IgG and/or IgM) healthy volunteers aged 18 to 55 years and 18 to 64 years were included in the phase 1 and phase 2 trials, respectively. History of COVID-19 or COVID-19 associated symptoms, contact with people with known COVID-19 in the last 14 days and positive COVID-19 real time polymerase chain reaction (RT-PCR) test were the key exclusion criteria for both trials. The list of eligibility criteria is provided in the Supplementary Appendix A.

Studies were approved by the Ethics Committee for Clinical Trials of Erciyes University and Turkish Ministry of Health (2020/548, October 28, 2020 for phase 1 and 2021/74, February 01, 2021 for phase 2). Both trials are registered at [ClinicalTrials.gov](https://clinicaltrials.gov) (phase 1, NCT04691947 and phase 2, NCT04824391).

2.2. Randomisation and masking

The phase 1 trial was the first-in-human study of ERUCoV-VAC. The first two participants received ERUCoV-VAC 3 μg and monitored for 7 days. As there were no significant safety issues in these patients, the next two participants received ERUCoV-VAC 6 μg and were also followed up for 7 days. Since the Data Monitoring Committee (DMC) confirmed no significant safety issues with both doses, 40 subsequent subjects were double-blindly randomized to one of the trial arms (placebo, ERUCoV-VAC 3 μg and 6 μg). In the phase 2 trial, all participants were blinded and randomly assigned to receive 3 μg or 6 μg doses of ERUCoV-VAC or placebo (2:1:1). Placebo recipients were unmasked after day 43 and released from the trials as per the study protocols, to allow them to receive a vaccine accessible via EUA, but the analytical facility remained unblinded for these participants until the end of the studies.

2.3. Procedures

ERUCoV-VAC was manufactured using the SARS-CoV-2 strain (hCoV-19/Türkiye/ERAGEM-001/2020 strain, GenBank accession number, MT327745.1 and GISAID; EPI_ISL_424366) isolated from a patient's nasopharyngeal sample in the Kayseri City Training and Research Hospital, Kayseri, Türkiye. [10] The virus was cultivated in a Vero cell line for 72–96 h at multiplicities of infection of 0.05. The infected cell supernatant was harvested and inactivated with β -propiolactone (1:4000 volume/volume at 2–8 °C for 6 h). Following clarification and ultrafiltration, the second β -propiolactone inactivation was performed (1:2000 volume/volume at 2–8 °C for 6 h). After purification, the vaccine was adsorbed onto aluminium hydroxide adjuvant (alhydrogel). The vaccine was manufactured as a liquid formulation containing 3 μg or 6 μg total protein with aluminium hydroxide adjuvant (0.5 mg/dose) in 0.5 mL.



sterile saline solution (0.9% NaCl) without preservative. A rocking motion bioreactor (Biostat® RM 20, Sartorius Stedim Biotech, Melsungen, Germany) was used in the phase 2 trial to increase vaccine production capacity. Placebo consisted of 0.5 mL sterile saline (0.9% NaCl) in prefilled syringes in the phase 1 trial; vials were used instead of prefilled syringes in the phase 2 trial and stored at refrigerator between 2 and 8 °C.

The clinical and laboratory evaluations for the phase 1 and 2 trials are given in Supplementary Appendix B. In the phase 1 trial, all subjects fulfilling the eligibility criteria were isolated in the Training Hotel of Erciyes University Faculty of Tourism, five days before vaccination to minimise the risk of infection. The day before receiving the vaccine, participants were transferred to IKUM and discharged 24 h after vaccination. The same procedures were repeated before the second injection, on day 21. The study procedures evaluated in the interim analysis included adverse event (AE) questioning and vital sign follow up (before dosing and 2 h, 4 h, 8 h, 12 h, and 24 h after administration; on day 3 to 7 and 14 after each dose, day 43 and month 2), laboratory safety data on days 2, 7, 14, 21, 22, 27, 35, 43, and month 2; immunogenicity analysis (anti-SARS-CoV-2 S1 RBD [Spike S1 Receptor Binding Domain] IgG and anti-SARS-CoV-2 IgG antibodies); neutralising antibodies against wild-type SARS-CoV-2 before each dose on vaccination day, on days 7, 14, 21, 27, 35, 43, and at month 2. Neutralising antibodies to wild-type SARS-CoV-2 (hCoV-19/Turkiye/ERAGEM-001/2020 strain, GenBank accession number: MT327745.1 and GISAID; EPI_ISL_424366) in serum samples were determined by a microneutralisation test (MNT₅₀) and confirmed with a focus-reduction neutralisation test (FRNT₅₀). The Euroimmune anti-SARS CoV-2 (IgG) enzyme linked immunoassay (ELISA) kit was used for measuring anti-SARS-CoV-2 S1 RBD IgG levels and an in-house IgG ELISA (based on purified whole-SARS-CoV-2) was used for detecting anti-SARS-CoV-2 IgG levels. Methods of the immunogenicity assessments are detailed in Supplementary Appendix C.

The phase 2 trial was initiated after the pre-scheduled interim safety and immunogenicity analyses at day 43 of phase 1 trial. In the phase 2 study, the immunisation schedule was changed to a two-dose regimen on day 0 and 28 considering the findings of the phase 1 trial and the results of a previous inactivated COVID-2 vaccine trial. [11] Participants were randomised to receive 3 µg or 6 µg doses of the vaccine or placebo. AEs and vital signs up to month 2; laboratory safety data (haematology, blood chemistry) on day 7, 14, 21, 28, 35, 43, and at month 2 and the immunogenicity tests (same as phase 1) before the dose on vaccination day, on day 7, 14, 21, 28, 35, 43, and at month 2 were evaluated. We also analysed vaccine stimulated T-cell response at day 43, by interferon (IFN)-γ ELISPOT assay using a commercial kit (Human IFN-γ ELISpotPRO [3420-2APT-2]; Mabtech, Sweden). The results were expressed as the number of spot-forming cells (SFCs) per 100000 cells and compared versus baseline.

2.4. Outcomes

Here, we describe the outcomes evaluated in the scope of the 2-month interim analyses of the phase 1 and 2 trials of ERUCoV-VAC.

In the phase 1 trial, the primary outcome was AEs observed within 43 days after the first vaccination, reported as the number and proportion of participants. Solicited and unsolicited AEs were collected. AE questioning was made at the time-points specified in the trial protocols for local reactions (pain, redness or swelling) and general health state (fever, headache, myalgia, malaise, gastrointestinal and cardiovascular symptoms) for the 7 consecutive days after each vaccination and in each visit. All AEs were evaluated based on the joint decision of the researchers in this single centre study. AEs related to vaccine administration (including

placebo) were defined as adverse drug reactions (ADR). AEs were graded as mild (grade 1; no intervention required; no impact on daily activities), moderate (grade 2; local/minimal/non-invasive intervention required, moderate impact on daily activities) and severe (grade 3; requirement for invasive interventions, major impact on daily life; subject seeks medical attention, needs major assistance with ADL).

The distribution of AEs between the study groups were compared. Abnormal laboratory test results, on injection dates (before vaccination) and on the seventh day, requiring repeat testing, were also reported as the number of events. The key immunogenicity outcomes were SARS-CoV-2 neutralising and anti-SARS-CoV-2 S1 RBD and anti-SARS CoV-2 total titres on day 43, expressed as geometric means and 95% confidence interval (GMT[95%CI]). Antibody titres on day 60 were also evaluated. Seroconversion was defined as at least fourfold increase in antibody titre versus baseline (before vaccination) and the proportion of participants achieving seroconversion at day 43 and 60 were presented.

In the phase 2 trial, the primary outcomes were the antibody titres against SARS-CoV-2 S1 RBD and whole SARS-CoV-2, and SARS-CoV-2 neutralising antibody titres on day 43. Antibody titres and seroconversion rates were evaluated at day 43 and 60 and expressed as described for phase 1 trial. The key safety outcome was AEs within the 43 days of first vaccination, reported as described for the phase 1 study.

In addition, ELISPOT assay was performed to evaluate the extent of T-cell response at day 43 (14 days after the second vaccination) and the results were expressed as the number of spot-forming cells (SFCs) per 100 000 cells. Details about ELISPOT testing are provided in Supplementary Appendix C.

2.5. Statistical analysis

As the phase 1 trial was the first-in-human study of ERUCoV-VAC, no formal sample size calculation was made. Instead, we included 17 participants in each vaccine arm and 10 participants in the placebo arm, considering the minimum sample size requirement to allow for a reasonable statistical evaluation. Safety outcomes were assessed in the safety population which comprised all participants who received at least one dose of the vaccine (placebo recipients were excluded from assessments after the first 43 days as described in the randomisation and masking section). Immunogenicity outcomes were assessed for antibody measurement on day 43 and 60.

The phase 2 trial included 100 participants in each vaccine arm and 50 participants in the placebo arm. The size of the resulting safety database was considered large enough to estimate the frequency of uncommon AEs.

Immunogenicity analyses were performed in the per-protocol set that included all subjects with no major protocol deviations who met all inclusion/exclusion criteria and vaccinated according to the vaccination time schedule described in the study protocol. All patients who received at least one dose of the vaccine or the placebo constituted the safety set.

We used Graph Pad Prism 9.0.1 program and Phoenix WinNonlin V8.2.0.4383 for the analyses. Fisher's exact test and chi-square test were used for categorical data analysis during safety assessment. Statistical analyses and graphical representations of immunological data were conducted using Graph Pad Prism 9.0.1. A chi-square test was used to compare seroconversion rates among the groups. Likewise, an unpaired t-test was utilized to compare 3 µg, and 6 µg vaccinated groups in ELISA, neutralising antibody assay, and ELISPOT assay. Similarly, one-way ANOVA was used to compare vaccinated and unvaccinated groups. Spearman's correlation curve was used to measure the relationship between MNT and FRNT results in each trial. The r-value indicates



the degree of correlation. For all analyses, a p value <0.05 denotes statistical significance.

3. Results

Between October 31 and November 18, 2020, 69 volunteers were screened of whom 44 were enrolled in the phase 1 trial. The phase 2 trial enrolled 250 of 376 volunteers who were screened between February 10 and March 12, 2021. The study profiles are displayed in Fig. 1A and Fig. 1B. Two-dose vaccination rates were 94.1%, 100% and 100%, and 93%, 97%, and 96% in the ERUCoV-VAC 3 µg, ERUCoV-VAC 6 µg and placebo groups, in the phase 1 and phase 2 trials, respectively. Baseline key demographics of participants enrolled in both trials are summarised in Table 1.

3.1. Safety

In the phase 1 trial, 25 AEs were reported in 15 (34.1%) of 44 participants until day 43. The frequencies of AEs were significantly different between the study groups (p = 0.0002); while there were no AEs in placebo recipients, the frequency of AEs was similar

among the ERUCoV-VAC groups (p = 0.4905) (Table 2). Most AEs (80%) were mild in severity and resolved within a few days; no severe or serious AEs were seen in any of the participants (Table S1, Supplementary Appendix D). The majority of ADRs occurred within the first week of vaccination. Pain at injection site was the most common AE (10 events in 9 (20.5%) subjects) followed by headache (6 events in 4 (9.1%) subjects) (Table S2, Supplementary Appendix D). Pain at injection site occurred in 16% (7/44) and 4.5% (2/44) of study participants after the first and second vaccination, respectively. Fifteen days after the first vaccination, COVID-19 RT-PCR test was positive in one subject in the ERUCoV-VAC 3 µg arm and was confirmed with repeat testing. A clinically relevant low white blood cell count occurred in one participant on day 14 and resolved after 3 days. The code was broken on day 17 and revealed that the participant was an ERUCoV-VAC 3 µg recipient. The causal relationship between the event and the investigational product was judged as “unlikely” by the investigators and the DMC. A total of 62 laboratory test results (grade 3) requiring repeat testing were detected on the days of vaccination (before injection) and seven days later (1st injection: ERUCoV-VAC 3 µg: 11, ERUCoV-VAC 6 µg: 28, placebo: 3; 2nd injection: ERUCoV-VAC 3 µg: 10, ERUCoV-VAC 6 µg: 7, placebo: 3) (Table S3, Supplementary Appendix E).

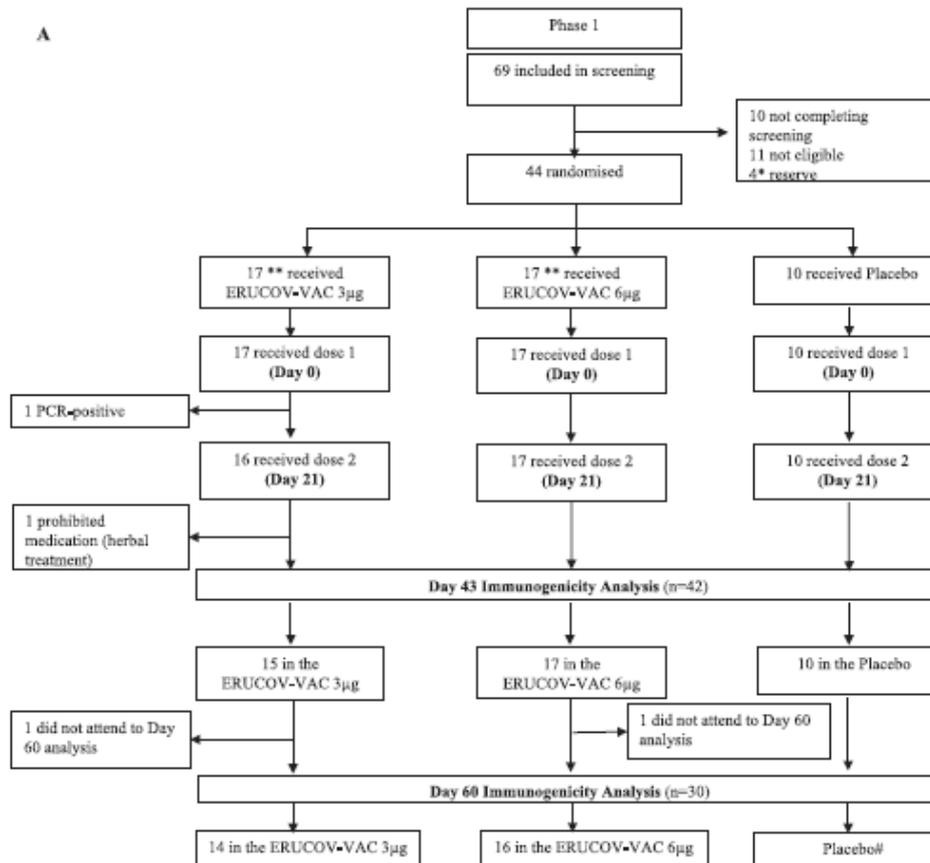


Fig. 1. Study profiles for (A) phase 1 and (B) phase 2 trials. n = number of participants. *not included as the targeted number of randomised patients was achieved. **The first four patients enrolled in the study (two in each vaccine arm) unblindly received ERUCoV-VAC and were monitored for a week for safety purposes (see randomisation and masking). #Placebo recipients were released from the trials to allow them to receive one of the vaccines that became available for emergency use.

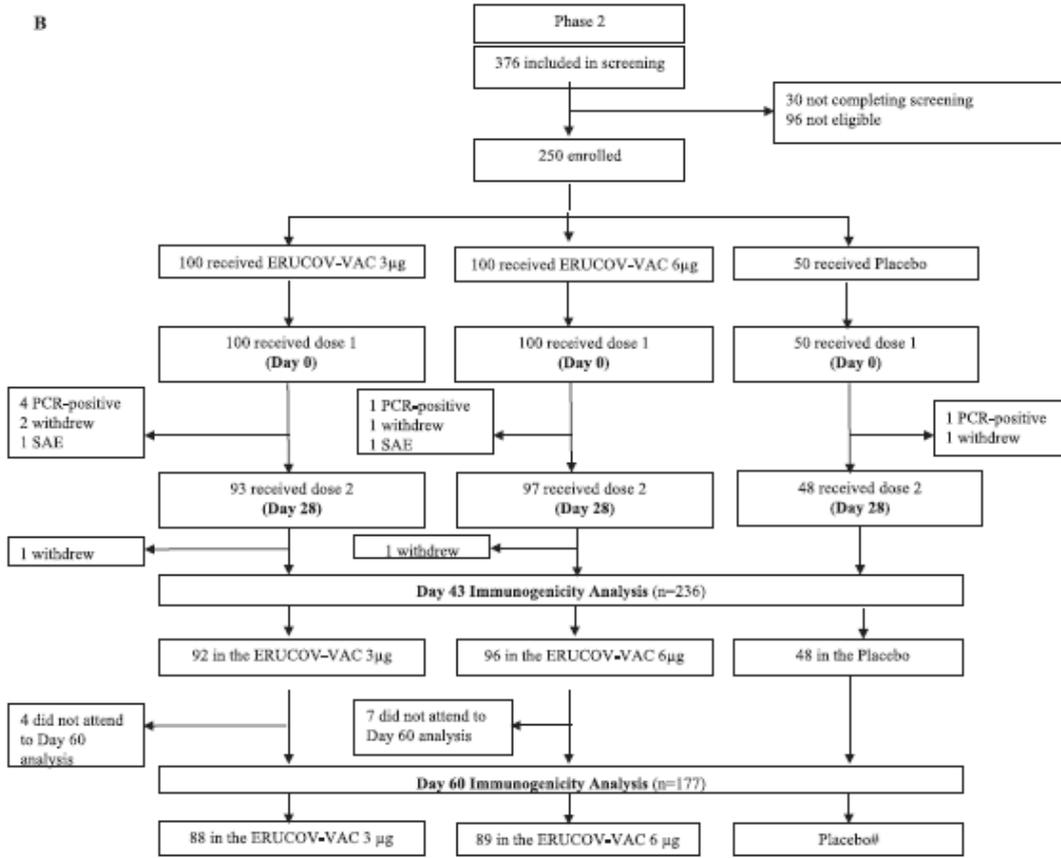


Fig. 1 (continued)

Table 1
Baseline demographic characteristics of participants in the phase 1 and phase 2 trials.

	ERUCoV-VAC 3 µg	ERUCoV-VAC 6 µg	Placebo	Overall
Phase 1				
Participants	n = 17	n = 17	n = 10	n = 44
Age (years)	31.9 ± 8.7	32.5 ± 8.9	34.6 ± 11.0	32.8 ± 9.2
Sex				
Male	13 (76.5)	12 (70.6)	10 (100.0)	35 (79.5)
Female	4 (23.5)	5 (29.4)	0 (0.0)	9 (20.5)
BMI (kg/m ²)	25.2 ± 3.3	24.0 ± 3.4	26.6 ± 3.8	25.0 (3.5)
Phase 2				
Participants	n = 100	n = 100	n = 50	n = 250
Age (years)	37.0 ± 10.2	37.9 ± 9.6	37.5 ± 9.5	37.5 ± 9.8
Sex				
Male	80 (80.0)	78 (78.0)	33 (66.0)	191 (76.4)
Female	20 (20.0)	22 (22.0)	17 (34.0)	59 (23.6)
BMI (kg/m ²)	26.2 ± 3.8	27.1 ± 3.4	26.4 ± 3.6	26.6 ± 3.6

Data are mean ± SD or n (%). BMI = body mass index.

In the phase 2 trial, 268 AEs, two-thirds of which (n = 176; 67.2 %) were moderate in severity, occurred in 153 (61.2 %) of 250 participants within 43 days of first vaccination (Table S4, S5, Supplementary Appendix F). The AEs were less frequent in the placebo arm than in ERUCoV-VAC arms (p = 0.0327), but the frequencies of AEs were comparable in the ERUCoV-VAC groups

(p = 0.4587) (Table 2). Headache was the most common AE (56 events in 47 (18.8 %) participants), followed by weakness (37 events in 33 (13.2 %) participants), and pain at injection site (23 events in 21 (8.4 %) participants). Pain at injection site was the only AE with a significantly higher frequency in the ERUCoV-VAC groups than in the placebo arm (p = 0.0322). PCR test for



Table 2
Grading of adverse events until day 60, phase 1 and 2 trials (Safety set).

	ERUCoV-VAC* 3 µg	ERUCoV-VAC* 6 µg	Placebo*	Overall	p1**	p2***
Phase 1 trial						
Until day 43*	n = 17	n = 17	n = 10	n = 44		
Any grade	13 (9; 52.9 %)	12 (6; 35.3 %)	0 (0; 0 %)	25 (15; 34.1 %)	0.0002**	0.4905
Grade 1 (mild)	11 (7; 41.1 %)	9 (6; 35.3 %)	0 (0; 0 %)	20 (13; 29.5 %)	0.0036**	>0.9999
Grade 2 (moderate)	2 (2; 11.8 %)	3 (1; 5.9 %)	0 (0; 0 %)	5 (3; 6.8 %)	0.3770**	>0.9999
Grade 3 (severe)	0 (0; 0 %)	0 (0; 0 %)	0 (0; 0 %)	0 (0; 0 %)	–	–
Day 43 to 60*				n = 34		
Any grade	0 (0; 0 %)	0 (0; 0 %)	NA	0 (0; 0 %)	–	–
	ERUCoV-VAC 3 µg	ERUCoV-VAC 6 µg	Placebo*	Overall	p1**	p2***
Phase 2 trial						
Until day 43*	n = 100	n = 100	n = 50	n = 250		
Any grade	106 (68; 68 %)	122 (62; 62 %)	40 (23; 46 %)	268 (153; 61.2 %)	0.0327	0.4587
Grade 1 (mild)	34 (22; 22 %)	41 (21; 21 %)	16 (9; 18 %)	91 (52; 20.8 %)	0.8488	>0.9999
Grade 2 (moderate)	72 (46; 46 %)	80 (40; 40 %)	24 (14; 28 %)	176 (100; 40 %)	0.1054	0.4752
Grade 3 (severe)	0 (0; 0 %)	1 (1; 1 %)	0 (0; 0 %)	1 (1; 0.4 %)	0.4709	>0.9999
Day 43 to 60****				n = 200		
Any grade	3 (2; 2 %)	5 (3; 3 %)	NA	8 (5; 2.5 %)	–	0.7209
Grade 1 (mild)	1 (1; 1 %)	5 (3; 3 %)	NA	6 (4; 2 %)	–	0.2116
Grade 2 (moderate)	2 (2; 2 %)	0 (0; 0 %)	NA	2 (2; 1 %)	–	0.4975
Grade 3 (severe)	0 (0; 0 %)	0 (0; 0 %)	NA	0 (0; 0 %)	–	–

Safety set consists of patients who received at least one dose of ERUCoV-VAC or placebo. Data are total number of AEs (number and percentage of patients). AEs = adverse events; NA = not applicable (placebo recipients were released from the trial after day 43 as per protocol to allow them to receive the vaccine approved for emergency use. *Reported as number of events (number and % of participants who experienced events). **Chi-square test comparing placebo vs ERUCoV-VAC 3 µg vs ERUCoV-VAC 6 µg; *** Fisher's exact test comparing ERUCoV-VAC 3 µg vs ERUCoV-VAC 6 µg. **** Calculated out of 200 participants since placebo recipients had been released after day 43 evaluation to allow them being vaccinated with one of the vaccines approved for emergency use.

Table 3
Incidence of adverse events (≥3%) until day 43 in the phase 2 trial.

Type of AEs	ERUCoV-VAC 3 µg (n = 100)	ERUCoV-VAC 6 µg (n = 100)	Placebo (n = 50)	Overall* (number and % of 250 participants)	p value*
Until day 43					
Headache	20 (17; 17 %)	20 (18; 18 %)	16 (12; 24 %)	56 (47; 18.8 %)	0.1907
Weakness	16 (14; 14 %)	16 (16; 16 %)	5 (5; 10 %)	37 (33; 13.2 %)	0.5650
Pain at injection site	13 (12; 12 %)	10 (9; 9 %)	0 (0; 0 %)	23 (21; 8.4 %)	0.0322
Positive PCR COVID-19 test	6 (6; 6 %)	3 (3; 3 %)	3 (3; 6 %)	12 (12; 4.8 %)	0.5539
Nausea	3 (3; 3 %)	7 (6; 6 %)	0 (0; 0 %)	10 (9; 3.6 %)	0.0960
Sore throat	3 (3; 3 %)	4 (4; 4 %)	2 (2; 4 %)	9 (9; 3.6 %)	0.9172
Fatigue	5 (5; 5 %)	4 (4; 4 %)	0 (0; 0 %)	9 (9; 3.6 %)	0.2897
Arthralgia	3 (3; 3 %)	4 (4; 4 %)	2 (2; 4 %)	9 (9; 3.6 %)	0.9172

Data are number or total number of AEs and (n and % of 250 participants). *Chi-square test for intergroup comparison of events.

COVID-19 was positive in 12 participants (three in placebo, six in ERUCoV-VAC 3 µg and three in ERUCoV-VAC 6 µg groups) (Table 3; Table S5, S6, Supplementary Appendix F). None of them required hospitalisation. Eight AEs, mostly mild (75 %), were detected in five participants (three in ERUCoV-VAC 3 µg and five in ERUCoV-VAC 6 µg groups) between days 43 and 60 (Table S4, Supplementary Appendix F). Three serious AEs (SAEs) were reported during the initial 43 days, which were all judged as unlikely to be related by the investigators and the DMC. First, a rib fracture occurred in a participant who fell while skiing one day after the first vaccination. The patient stayed in hospital for four days and followed up for eight months without any complication. Unblinding revealed that the subject received ERUCoV-VAC 3 µg. Second, a 53-year-old participant with a BMI of 29.4 kg/m² and no known cardiovascular disease, died of myocardial infarction while exercising, 20 days after the first injection. The code was broken, and the patient was in the ERUCoV-VAC 6 µg arm. The third SAE was hospitalisation due to COVID-19 symptoms and PCR test positivity against SARS-CoV-2 12 days after the second vaccination. The participant was hospitalized for six days with mild disease. Unblinding revealed that the subject was in the placebo arm. Additionally, a total of 85 laboratory test abnormalities requiring repeat testing were detected on the 1st and 7th days of both vaccinations, (for

the first and second injection: ERUCoV-VAC 3 µg: 11 and 31, ERUCoV-VAC 6 µg: 10 and 23, placebo: 6 and 4, respectively) (Table S7, Supplementary Appendix G).

3.2. Immunogenicity

3.2.1. SARS-CoV-2 wild-type neutralising antibody (MNT₅₀, FRNT₅₀)

In the phase 1 trial, SARS-CoV-2 wild-type neutralising antibody (MNT₅₀) GMTs (95 %CI) were comparable across the trial groups at baseline: 2.0 (1.5–2.5) in ERUCoV-VAC 3 µg, 1.8 (1.6–2.0) in ERUCoV-VAC 6 µg, and 1.6 (1.3–2.0) in placebo groups (p = 0.3988), and increased to 8.3 (6.4–10.3) and 8.6 (7.0–10.2) at day 43, and to 9.7 (6.0–13.4) and 10.8 (8.8–12.8) at day 60, in ERUCoV-VAC 3 µg and 6 µg groups, respectively (Fig. 2A; Table S8, Supplementary Appendix H). SARS-CoV-2 wild-type neutralising antibody (MNT₅₀) GMTs at day 43 (p = 0.7357) and day 60 (p = 0.8644) were similar in the vaccine arms (Fig. 2A; Table S8 Supplementary Appendix H).

Consistent with MNT₅₀ results, SARS-CoV-2 wild-type neutralising antibody (FRNT₅₀) GMTs were comparable across the trial groups at baseline: 1.8 (1.6–1.8) in ERUCoV-VAC 3 µg, 1.7 (1.4–1.7) in ERUCoV-VAC 6 µg, and 1.4 (1.1–1.4) in placebo groups (p = 0.1688), and increased to 8.4 (6.3–10.5) and 9.0 (7.2–10.8) at

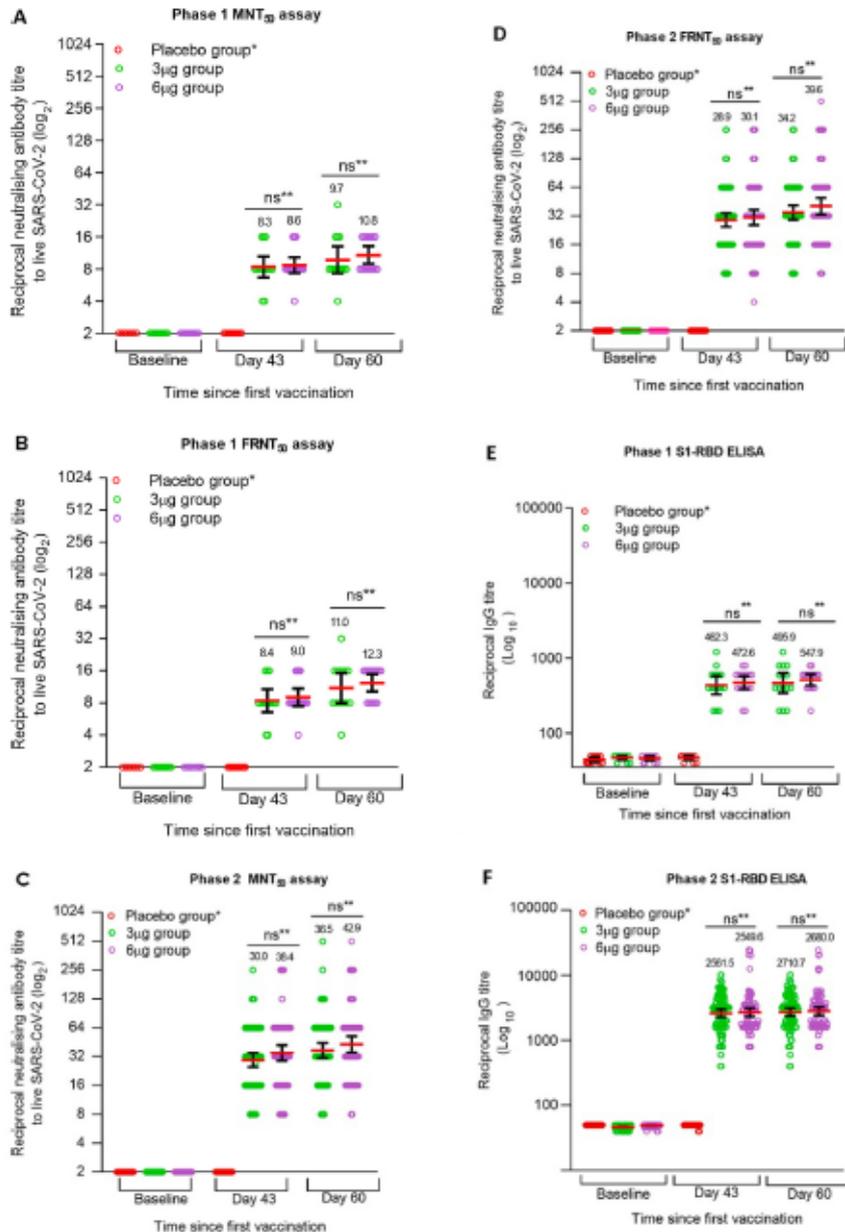


Fig. 2. Titres of SARS-CoV-2 wild-type neutralising antibodies (A–D) and anti-S1-RBD IgG (E–F) and anti-SARS-CoV-2 total IgG (G–H) antibodies at baseline, day 43 and day 60 in the ERUCoV-VAC (3 µg and 6 µg) and placebo groups in the phase 1 and phase 2 trials. Dose schedule: two doses 21 days apart in the phase 1 trial; two doses 28 days apart in the phase 2 trial. *placebo recipients were released from the trial after day 43, therefore not included in day 60 analyses. **ns = not significant. The numbers above the spots are the GMT estimates, the error bars represent the 95% CI of the GMT and the spots indicate the individual antibody titres. ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay; FRNT = focus-reduction neutralisation test; GMT = geometric mean titre; IgG = immunoglobulin G. MNT = microneutralisation test. SARS-CoV-2 = severe acute respiratory syndrome coronavirus 2; S1-RBD = spike 1-receptor binding domain.

day 43 and to 11.0 (7.0–14.9) and 12.3 (10.3–14.5) at day 60 in ERUCoV-VAC 3 µg and 6 µg groups, respectively (Fig. 2B; Table S8 Supplementary Appendix H). SARS-CoV-2 wild-type neutralising antibody (FRNT₅₀) GMTs at day 43 ($p = 0.5393$) and day 60 ($p = 0.8578$) were also similar in the vaccine arms (Fig. 2B; Table S8

Supplementary Appendix H). There was a strong positive correlation between the FRNT₅₀ and MNT₅₀ results at day 43 ($r = 0.7065$; $p = 0.0001$) (Fig. S1A, Supplementary Appendix I). The seroconversion rates (95% CI) of SARS-CoV-2 wild-type neutralising antibody (MNT₅₀ and FRNT₅₀) were 86.7% (59.5–98.3) and

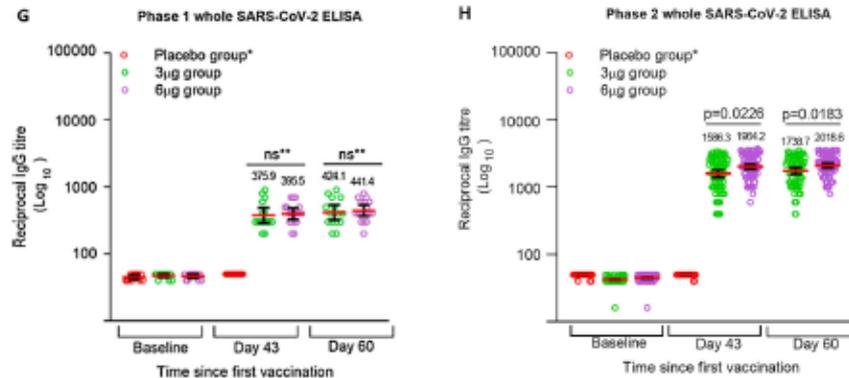


Fig. 2 (continued)

94.1% (71.3–99.8) at day 43, and 92.8% (66.1–99.8) and 100.0% (79.4–100.0) at day 60, in the ERUCoV-VAC 3 µg and 6 µg groups, respectively (Table 4). No significant difference was found in the seroconversion rates of SARS-CoV-2 wild-type neutralising antibody titres at day 43 ($p = 0.8727$) and day 60 ($p = 0.8873$) between the vaccine groups (Table 4).

In the phase 2 trial, SARS-CoV-2 wild-type neutralising antibody (MNT₅₀) GMTs (95% CI) were comparable across the groups at baseline: 2.0 (2.0–2.0) in the ERUCoV-VAC 3 µg, 2.0 (1.9–2.1) in the ERUCoV-VAC 6 µg, and 1.9 (1.8–2.0) in the placebo groups ($p = 0.8692$) and increased to 30.0 (22.0–37.9) and 34.9 (22.1–47.6) at day 43, and to 36.5 (23.0–49.9) and 42.9 (26.6–60.1) on day 60, in the ERUCoV-VAC 3 µg and 6 µg arms, respectively (Table S9, Supplementary Appendix J). SARS-CoV-2 wild-type neutralising antibody (MNT₅₀) GMTs at day 43 ($p = 0.0666$) and day 60 ($p = 0.2166$) was similar in the vaccine groups (Fig. 2C; Table S9, Supplementary Appendix J).

SARS-CoV-2 wild-type neutralising antibody (FRNT₅₀) GMTs (95% CI) were comparable across the trial groups at baseline: 2.0 (2.0–2.0) in the ERUCoV-VAC 3 µg, 2.0 (1.9–2.1) in the

ERUCoV-VAC 6 µg, and 2.0 (1.9–2.1) in the placebo groups ($p = 0.8421$), and increased to 28.9 (20.0–37.7) and 30.1 (18.5–41.6) at day 43, and to 34.2 (23.8–44.5) and 39.6 (22.7–58.0) at day 60 in the ERUCoV-VAC 3 µg and 6 µg groups, respectively. (Fig. 2D, Table S9, Supplementary Appendix J). SARS-CoV-2 wild-type neutralising antibody GMTs at day 43 ($p = 0.3366$) and day 60 ($p = 0.8777$) were similar in the ERUCoV-VAC groups (Fig. 2D; Table S9, Supplementary Appendix J). There was a strong positive correlation between the FRNT₅₀ and MNT₅₀ results regarding SARS-CoV-2 wild-type neutralising antibody responses at day 43 ($r = 0.9156$; $p = 0.0001$) (Fig. S1B, Supplementary Appendix I). Seroconversion rates (95% CI) of SARS-CoV-2 wild-type neutralising antibody titres (MNT₅₀ and FRNT₅₀) were 95.7% (91.4–99.8) and 98.9% (96.9–100.0) at day 43, and 96.6% (92.8–100.0) and 98.9% (96.7–100.0) at day 60 in ERUCoV-VAC 3 µg and 6 µg groups, respectively (Table 4). There were no significant differences between the seroconversion rates of SARS-CoV-2 wild-type neutralising antibodies in the ERUCoV-VAC 3 µg and 6 µg groups at day 43 ($p = 0.8710$) and day 60 ($p = 0.9129$) (Table 4).

Table 4

Seroconversion rates of SARS-CoV-2 wild-type neutralising antibodies, anti-S1-RBD IgG and anti-SARS-CoV-2 total IgG antibody (per-protocol population).

		SARS-CoV-2 wild-type neutralising antibody* (MNT ₅₀)				SARS-CoV-2 wild-type neutralising antibody* (FRNT ₅₀)			
		3 µg group	6 µg group	Placebo	p**	3 µg group	6 µg group	Placebo	p**
Phase 1	Day 43	86.7% (13/15) [59.5–98.3]	94.1% (16/17) [71.3–99.8]	0.0% (0/10) [0.0–30.0]	0.8727	86.7% (13/15) [59.5–98.3]	94.1% (16/17) [71.3–99.8]	0.0% (0/10) [0.0–30.0]	0.8727
	Day 60	92.8% (13/14) [66.1–99.8]	100.0% (16/16) [79.4–100.0]	NA***	0.8873	92.8% (13/14) [66.1–99.8]	100.0% (16/16) [79.4–100.0]	NA***	0.8873
Phase 2	Day 43	95.7% (88/92) [91.4–99.8]	98.9% (95/96) [96.9–100.0]	0.0% (0/48) [0.0–7.4]	0.8710	95.7% (88/92) [91.4–99.8]	98.9% (95/96) [96.9–100.0]	0.0% (0/48) [0.0–7.4]	0.8710
	Day 60	96.6% (85/88) [92.8–100.0]	98.9% (88/89) [96.7–100.0]	NA***	0.9129	96.6% (85/88) [92.8–100.0]	98.9% (88/89) [96.7–100.0]	NA***	0.9129
		Anti-S1-RBD IgG* (ELISA)				Anti-SARS-CoV-2 total IgG antibody* (ELISA)			
		3 µg group	6 µg group	Placebo	p**	3 µg group	6 µg group	Placebo	p**
Phase 1	Day 43	100.0% (15/15) [78.2–100.0]	100.0% (17/17) [80.4–100.0]	0.0% (0/10) [0.0–30.0]	1.0000	100.0% (15/15) [78.2–100.0]	100.0% (17/17) [80.4–100.0]	0.0% (0/10) [0.0–30.0]	1.0000
	Day 60	100.0% (14/14) [76.8–100.0]	100.0% (16/16) [79.4–100.0]	NA***	1.0000	100.0% (14/14) [76.8–100.0]	100.0% (16/16) [79.4–100.0]	NA***	1.0000
Phase 2	Day 43	100.0% (92/92) [96.0–100.0]	100.0% (96/96) [96.2–100.0]	0.0% (0/48) [0.0–7.4]	1.0000	100.0% (92/92) [96.0–100.0]	100.0% (96/96) [96.2–100.0]	0.0% (0/48) [0.0–7.4]	1.0000
	Day 60	100.0% (88/88) [95.9–100.0]	100.0% (89/89) [95.9–100.0]	NA***	1.0000	100.0% (88/88) [95.9–100.0]	100.0% (89/89) [95.9–100.0]	NA***	1.0000

*Data are % (n/N) [95% CI]. Seroconversion was defined as fourfold rise over baseline. Dose schedule: two doses 21 days apart in the phase 1 trial; two doses 28 days apart in the phase 2 trial. Timepoints show the time elapsed since the administration of the first dose. **p value, for comparison of ERUCoV-VAC 3 µg and 6 µg groups. ***NA = not applicable (placebo recipients were released from the trial after day 43). ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay; FRNT = focus-reduction neutralisation test; IgG = immunoglobulin G; n = number of participants who achieved seroconversion. N = number of participants included in the immunogenicity analysis; CI = confidence interval.



3.2.2. Anti-S1-RBD IgG antibody

In the phase 1 trial, at baseline, anti-S1-RBD IgG antibody GMTs (95 %CI) of trial groups were comparable: 47.2 (43.6–49.8) in ERUCoV-VAC 3 µg, 46.4 (43.6–49.2) in ERUCoV-VAC 6 µg, and 45.4 (42.6–48.4) in placebo groups ($p = 0.4533$) (Fig. 2E, Table S8, Supplementary Appendix H). Increases to 462.3 (327.8–596.9) and 472.6 (432.6–513.0) at day 43, and to 495.9 (352.4–639.2) and 547.9 (515.8–580.0) at day 60 occurred in ERUCoV-VAC 3 µg and 6 µg groups, respectively. Vaccine groups did not differ regarding the elicited anti-S1-RBD IgG antibody GMTs at day 43 ($p = 0.9147$) and day 60 ($p = 0.8393$) (Fig. 2E; Table S8, Supplementary Appendix H). Seroconversion of anti-S1-RBD IgG antibodies was achieved in all ERUCoV-VAC recipients at day 43 and maintained at day 60 (Table 4).

In the phase 2 trial, at baseline, the GMTs (95 %CI) of anti-S1-RBD IgG antibodies were comparable across the study groups: 46.3 (45.6–47.5) in ERUCoV-VAC 3 µg, 48.8 (47.9–49.4) in ERUCoV-VAC 6 µg, and 50.0 (49.5–50.8) in placebo groups ($p = 0.5979$) (Fig. 2F; Table S9, Supplementary Appendix J). anti-S1-RBD IgG GMTs (95 %CI) increased to 2561.5 (2153.1–2969.8) and 2549.6 (1749.7–3349.4) on day 43, and to 2710.7 (2277.8–3143.5) and 2680.0 (1851.3–3524.6) at day 60, in ERUCoV-VAC 3 µg and 6 µg groups, respectively (Fig. 2F; Table S9, Supplementary Appendix J). The elicited anti-S1-RBD IgG antibody GMTs at day 43 ($p = 0.2301$) and day 60 ($p = 0.3157$) were similar in the vaccine groups (Fig. 2F; Table S9, Supplementary Appendix J). Seroconversion was achieved for anti-S1-RBD IgG antibodies in all participants in ERUCoV-VAC 3 µg and 6 µg groups at day 43 and maintained at day 60 (Table 4).

3.2.3. Anti-SARS-CoV-2 total IgG antibody

In the phase 1 trial, the anti-SARS-CoV-2 total IgG antibody GMTs (95 %CI) across the trial groups were comparable at baseline: 47.2 (44.7–49.8) in ERUCoV-VAC 3 µg, 46.4 (43.6–49.2) in the ERUCoV-VAC 6 µg, and 44.7 (41.7–47.6) in the placebo groups ($p = 0.7065$), and increased to 375.9 (264.0–487.3) and 395.5 (319.4–471.0) at day 43, and to 424.1 (297.4–531.5) and 441.4 (364.2–519.7) at day 60, in the ERUCoV-VAC 3 µg and 6 µg groups, respectively (Table S8, Supplementary Appendix H). The elicited anti-SARS-CoV-2 total IgG antibody GMTs at day 43 ($p = 0.7990$) and day 60 ($p = 0.9906$) were similar in ERUCoV-VAC groups (Fig. 2G; Table S8, Supplementary Appendix H). Seroconversion rates of 100 % were achieved for anti-SARS-CoV-2 total IgG antibody in ERUCoV-VAC 3 µg and 6 µg groups at day 43 and maintained at day 60 (Table 4).

In the phase 2 trial, the anti-SARS-CoV-2 total IgG antibody GMTs (95 % CI) across the trial groups were comparable at baseline: 42.3 (41.4–43.2) in ERUCoV-VAC 3 µg, 44.8 (43.8–45.9) in ERUCoV-VAC 6 µg, and 49.1(48.6–50.1) in placebo groups ($p = 0.6839$), and increased to 1586.3 (1398.8–1773.73) and 1964.2 (1788.7–2139.6) on day 43, and to 1738.7 (1538.6–1954.3) and 2018.6 (1846.9–2266.0) on day 60, in ERUCoV-VAC 3 µg and 6 µg groups, respectively (Table S9, Supplementary Appendix J). ERUCoV-VAC 6 µg induced significantly higher anti-SARS-CoV-2 total IgG antibody GMTs than ERUCoV-VAC 3 µg at both day 43 ($p = 0.0226$) and day 60 ($p = 0.0183$) (Fig. 2G; Table S9, Supplementary Appendix J). Seroconversion rates were 100.0 % for anti-SARS-CoV-2 total IgG antibody in ERUCoV-VAC 3 µg and 6 µg groups at day 43 and maintained at day 60 (Table 4).

GMT ratios for SARS-CoV-2 wild-type neutralising antibody (MNT₅₀, FRNT₅₀), anti-S1-RBD IgG antibody and anti-SARS-CoV-2 total IgG antibody responses are presented for both doses of ERUCoV-VAC in Table S10 and Table S11 in the Supplementary Appendix K.

3.2.4. ELISPOT assay

In the ELISPOT assay, stimulated peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) on day 14 after the second vaccination showed significantly higher spots compared to non-stimulated PBMCs collected at the same time point and stimulated PBMCs collected on day 0. The 3 µg vaccinated PBMCs resulted in numerically higher spot-forming units than those vaccinated with 6 µg (GMT [95 % CI]: 136.2 [177.9–154.4] vs 120.1 239 [101.9–138.2] (Table S12, Supplementary Appendix I; Fig. S2 Supplementary Appendix I).

4. Discussion

This report presents the 2-month interim findings from the phase 1 and 2 trials of ERUCoV-VAC, an inactivated whole virion vaccine against SARS-CoV-2, in healthy adults aged < 65 years. The 3 µg and 6 µg doses of the vaccine, scheduled 21 and 28 days apart in the phase 1 and 2 trials, respectively, had an acceptable safety and tolerability profile and induced robust humoral immune response against SARS-CoV-2.

ERUCoV-VAC 3 µg and 6 µg were comparable in short-term safety and tolerability. Although this report is confined to 2 months follow up data, we think that the current findings are valuable in terms of the overall safety of the vaccine, as adverse reactions in both previous SARS-CoV-2 inactivated vaccine studies [11–16] and in ours were mostly seen within the first week after vaccination. It is worth emphasizing that the two vaccine doses were comparable in AE frequency and did not pose a major safety concern. SAEs were very rare and were judged as unlikely to be related to ERUCoV-VAC. Consistent with the other inactivated vaccine studies, [11–16] pain at injection site was common in our study; it occurred more frequently in vaccine groups than in the placebo group. It might be associated with the reactogenicity of the adjuvant. The frequency of fever, a common symptom observed in subjects vaccinated with RNA-based COVID-19 vaccines, was relatively low (none in phase 1 and 2.8 % in phase 2) in our study, in line with most of the previously reported findings from several inactivated SARS-CoV-2 vaccine trials. [11–16] As a tentative observation, we would like to underline that nausea was only reported in ERUCoV-VAC recipients, although the difference versus placebo was not significant. The final results of the phase 2 trial and future studies will provide more insight on this point. Two-dose vaccination rates were over 90 % in both trials; however, the percentages of participants who were included in immunogenicity assessments on day 60 were lower compared to day 43. The main reason for this is the release of placebo recipients from the trials after day 43 to allow them to receive one of the vaccines approved for emergency use.

Two-dose regimens of both ERUCoV-VAC 3 µg and 6 µg elicited significant humoral immune responses at days 43 and 60 after the first dose. The magnitude of the responses was comparable between the two doses in both trials, except for anti-SARS CoV-2 total IgG antibody titres in the phase 2 trial where ERUCoV-VAC 6 µg led to significantly higher antibody titres compared to ERUCoV-VAC 3 µg. This may be at least partly explained by the higher abundance of the nucleocapsid protein.

Due to the differences in antibody measuring methods, reference samples, dosing and assessment schedules between the studies, it might not be appropriate to compare the results of various inactivated SARS-CoV-2 vaccine studies. However, we achieved high levels of neutralising and anti-spike antibody titres consistent with the findings from the other inactivated COVID-19 vaccine studies. [11–16] We comprehensively evaluated the immunogenicity of an inactivated COVID-19 vaccine in both studies and used live virus-based neutralising tests for immunogenicity assessments. We confirmed that the results of MNT findings were



consistent with FRNT findings. There was a high correlation between the results of the two well standardized neutralisation assays, in both phase 1 and 2 trials.

It is noteworthy to mention that the antibody GMTs measured on days 43 and 60 in phase 2 trial were at least 3-fold higher than those in phase 1 trial, for both ERUCoV-VAC doses. Although it is possible to comment on the potential reasons for the higher immune response rates in the phase 2 trial, we would like to point out that the findings of these two studies, which differ in terms of vaccine administration and immunogenicity evaluation schedule, were not statistically compared in this interim analysis. Previously reported results from several inactivated COVID-19 vaccines indicated that longer intervals (21 or 28 days versus 14 days) between doses resulted in better immunogenicity outcomes. [11,12,14] We therefore preferred a 28-day dosing interval in the phase 2 trial and achieved higher antibody levels and seroconversion rates than those in the phase 1 trial, where the dosing interval was 21 days. Another reason for better immunogenicity outcomes in phase 2 might be the use of bioreactors in the production of investigational products in this trial. It has been previously reported that the manufacturing process contributes to the maintenance of spike proteins, thereby enhancing immune responses. [12] The improved purification process in vaccine production for Phase 2 may also have played a role in achieving better immunogenicity results in that trial.

This interim report has several limitations. First, individuals younger than 18 years or older than 65 years and those with known health problems were not included. Therefore, it would not be appropriate to draw conclusions about the effects of the vaccine in children, the elderly or people with comorbidities. Second, we could not compare the antibody responses elicited by ERUCoV-VAC and natural SARS-CoV-2 infection, as we did not collect convalescent sera. Third, the times elapsed between the second vaccinations and post-dose immune response evaluation time-points were different in the phase 1 and 2 trials (one week longer in the phase 1 trial). This might have affected our immunogenicity findings. We would like to emphasize that we only evaluated the differences in the outcomes between the two dose strengths (3 and 6 µg) administered with a similar dose range in the same study and that we did not compare the findings from the two studies. Furthermore, we think that the different post-dose evaluation time-points have no effect on safety outcomes, as the ADRs mostly occurred within the first week of vaccinations in this study. The fact that all women were assigned to the placebo arm in the phase 1 trial is purely coincidental as the study was randomized and double-blinded. The number of women who applied for participation into that trial was low, therefore few women were included in that trial. Sex-specific vaccination behaviour differences may be an interesting area for future real-life studies.

Data on the long-term safety and cellular/humoral immunogenicity of ERUCoV-VAC (including durability of immune responses and its impact on memory cells), its activity against SARS-CoV-2 variants (alpha, delta and Omicron), and the effects of getting a third booster dose are not yet available. Twelve-month results of the phase 1 and 2 trials will be available later in 2022 and provide information on these topics. Furthermore, a randomized, double-blind, active-controlled phase 3 trial comparing TURKOVAC and CoronaVac for efficacy, safety, and immunogenicity is ongoing.

In conclusion, the preliminary findings from the phase 1 and 2 trials of ERUCoV-VAC indicated that 3 µg and 6 µg doses of the inactivated whole virion vaccine had comparable safety, tolerability, and immunogenicity profiles in healthy adults aged < 65 years. Higher antibody responses were achieved with two-dose schedule with 28 days interval versus 21 days. The larger phase 3 trial will provide further insight into how well the immunogenicity of

ERUCoV-VAC is reflected in its clinical efficacy. ERUCoV-VAC 3 µg has been selected for further investigation for efficacy and safety in an ongoing active-controlled phase 3 trial and authorized for emergency use in Türkiye since December 2021 under the name of TURKOVAC.

Data sharing

Anonymous participant data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

Funding

Both phase 1 and phase 2 studies were funded by the Health Institutes of Türkiye (TUSEB) (with grant ID: 11484) and Erciyes University (with grant ID: 9644).

CRediT authorship contribution statement

Aykut Ozdarendeli: Conceptualization, Data curation, Formal analysis, Funding acquisition, Investigation, Methodology, Project administration, Resources, Supervision, Validation, Writing – original draft, Writing – review & editing. **Zafer Sezer:** Conceptualization, Data curation, Formal analysis, Funding acquisition, Investigation, Methodology, Project administration, Resources, Supervision, Validation, Writing – original draft, Writing – review & editing. **Shaikh Terkis Islam Pavel:** Data curation, Investigation, Methodology, Resources, Validation, Writing – review & editing. **Ahmet Inal:** Data curation, Investigation, Methodology, Resources, Validation, Writing – review & editing. **Hazel Yetiskin:** Investigation, Methodology, Resources, Validation, Writing – original draft, Writing – review & editing. **Busra Kaplan:** Investigation, Methodology, Resources, Validation, Writing – original draft, Writing – review & editing. **Muhammet Ali Uygut:** Investigation, Methodology, Resources, Validation, Writing – original draft, Writing – review & editing. **Adnan Bayram:** Investigation, Methodology, Writing – review & editing. **Mumtaz Mazicioğlu:** Investigation, Methodology, Writing – review & editing. **Gamze Kalin Unuvar:** Investigation, Methodology, Writing – review & editing. **Zeynep Ture Yuce:** Investigation, Methodology, Writing – review & editing. **Gunsu Aydin:** Investigation, Methodology, Writing – review & editing. **Ahmet Furkan Aslan:** Investigation, Methodology, Writing – review & editing. **Refika Kamuran Kaya:** Methodology, Writing – review & editing. **Rabia Cakir Koc:** Funding acquisition, Writing – review & editing. **Ihsan Ates:** Writing – review & editing. **Ates Kara:** Conceptualization, Writing – review & editing.

Data availability

Data will be made available on request.

Declaration of Competing Interest

The authors declare the following financial interests/personal relationships which may be considered as potential competing interests: Aykut Ozdarendeli, Shaikh Terkis Islam Pavel, Hazel Yetiskin, Muhammet Ali Uygut and Gunsu Aydin are the named inventors on patent applications covering inactivated COVID-19 vaccine development.

Acknowledgments

The Health Institutes of Türkiye (TUSEB) and Erciyes University provided the funding for both studies; approved the final protocols,



final manuscript, and the decision to submit for publication, but had no role in data collection, data analysis, data interpretation, or writing of the report. Ideal CRO (Ankara, Türkiye) acted as the contract research organization representing TUSEB and contributed to correspondence between investigators, the ethics committee, and the Ministry of Health; monitoring, site management, storage, and distribution of the consumables; developing electronic case report forms, and data management, statistical analyses, and overall project management. Kocak Pharma provided the investigational products.

Appendix A. Supplementary material

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2022.10.093>.

References

- [1] Zhu N, Zhang D, Wang W, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med* 2020;382:727–723.
- [2] World Health Organization. Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 - 11 March 2020. <https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19-11-march-2020> (accessed March 01, 2022).
- [3] World Health Organization. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard. <https://covid19.who.int/> (accessed March 01, 2022).
- [4] Ehrlich J. The global value of vaccination. *Vaccine* 2003;21:596–600.
- [5] Roush SW, Murphy TV. Vaccine-Preventable Disease Table Working Group. Historical comparisons of morbidity and mortality for vaccine-preventable diseases in the United States. *JAMA* 2007;298:2155–63.
- [6] Rodrigues CMC, Plotkin SA. Impact of vaccines; health, economic and social perspectives. *Front Microbiol* 2020;11:1526.
- [7] World Health Organization. COVID-19 vaccines. (accessed March 01, 2022).
- [8] World Health Organization. COVID-19 vaccine tracker and landscape. <https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines> (accessed March 01, 2022).
- [9] Pavel STI, Yetiskin H, Uygut MA, et al. Development of an inactivated vaccine against SARS-CoV-2. *Vaccines (Basel)* 2021;9:1266.
- [10] Pavel STI, Yetiskin H, Aydın G, et al. Isolation and characterization of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 in Türkiye. *PLoS One* 2020;15:e0238614.
- [11] Xia S, Duan K, Zhang Y, et al. Effect of an inactivated vaccine against SARS-CoV-2 on safety and immunogenicity outcomes: Interim analysis of 2 randomized clinical trials. *JAMA* 2020;324:951–60.
- [12] Zhang Y, Zeng G, Pan H, et al. Safety, tolerability, and immunogenicity of an inactivated SARS-CoV-2 vaccine in healthy adults aged 18–59 years: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1/2 clinical trial. *Lancet Infect Dis* 2021;21:181–92.
- [13] Gao Q, Bao L, Mao H, et al. Development of an inactivated vaccine candidate for SARS-CoV-2. *Science* 2020;369(6499):77–81.
- [14] Xia S, Zhang Y, Wang Y, et al. Safety and immunogenicity of an inactivated SARS-CoV-2 vaccine, BBIBP-CorV: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1/2 trial. *Lancet Infect Dis* 2021;21:39–51.
- [15] Pan HX, Liu JK, Huang BY, et al. Immunogenicity and safety of a severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 inactivated vaccine in healthy adults: randomized, double-blind, and placebo-controlled phase 1 and phase 2 clinical trials. *Chin Med J (Engl)* 2021;134:1289–98.
- [16] Ella R, Vadrevu KM, Jogdand H, et al. Safety and immunogenicity of an inactivated SARS-CoV-2 vaccine, BBV152: a double-blind, randomised, phase 1 trial [published correction appears in *Lancet Infect Dis*. 2021 Apr; 21(4):e81]. *Lancet Infect Dis* 2021;21:637–46.



X: EK.4

Makale-Rapel Faz 2 “Safety and immunogenicity of inactive vaccines as booster doses for COVID-19 in Türkiye: Arandomized trial”



Human Vaccines & Immunotherapeutics



ISSN: (Print) (Online) Journal homepage: <https://www.tandfonline.com/loi/khvi20>

Safety and immunogenicity of inactive vaccines as booster doses for COVID-19 in Türkiye: A randomized trial

Ahmet Omma, Ayse Batirel, Mehtap Aydin, Fatma Yilmaz Karadag, Abdulsamet Erden, Orhan Kucuksahin, Berkan Armagan, Serdar Can Güven, Ozlem Karakas, Selim Gokdemir, Lutfiye Nilsun Altunal, Aslihan Ayse Buber, Emin Gemcioglu, Oguzhan Zengin, Osman Inan, Enes Seyda Sahiner, Gulay Korukluoglu, Zafer Sezer, Aykut Ozdarendeli, Ates Kara & Ihsan Ates

To cite this article: Ahmet Omma, Ayse Batirel, Mehtap Aydin, Fatma Yilmaz Karadag, Abdulsamet Erden, Orhan Kucuksahin, Berkan Armagan, Serdar Can Güven, Ozlem Karakas, Selim Gokdemir, Lutfiye Nilsun Altunal, Aslihan Ayse Buber, Emin Gemcioglu, Oguzhan Zengin, Osman Inan, Enes Seyda Sahiner, Gulay Korukluoglu, Zafer Sezer, Aykut Ozdarendeli, Ates Kara & Ihsan Ates (2022) Safety and immunogenicity of inactive vaccines as booster doses for COVID-19 in Türkiye: A randomized trial, Human Vaccines & Immunotherapeutics, 18:6, 2122503, DOI: [10.1080/21645515.2022.2122503](https://doi.org/10.1080/21645515.2022.2122503)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/21645515.2022.2122503>



© 2022 The Author(s). Published with license by Taylor & Francis Group, LLC.



[View supplementary material](#)



Published online: 31 Oct 2022.



[Submit your article to this journal](#)



Article views: 960



[View related articles](#)



[View Crossmark data](#)

Full Terms & Conditions of access and use can be found at
<https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=khvi20>



Safety and immunogenicity of inactive vaccines as booster doses for COVID-19 in Türkiye: A randomized trial

Ahmet Omma^a, Ayşe Batirel^b, Mehtap Aydın^c, Fatma Yılmaz Karadag^d, Abdulsamet Erden^e, Orhan Kucuksahin^f, Berkan Armagan^g, Serdar Can Güven^h, Ozlem Karakasⁱ, Selim Gokdemir^j, Lutfiye Nilsun Altunal^k, Aslihan Ayşe Buber^l, Emin Gemcioglu^m, Oguzhan Zenginⁿ, Osman Inan^o, Enes Seyda Sahiner^p, Gulay Korukluoglu^q, Zafer Sezer^r, Aykut Ozdarendeli^s, Ates Kara^t, and Ihsan Ates^u

^aClinic of Rheumatology, Ankara City Hospital, Ankara, Türkiye; ^bDepartment of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, University of Health Sciences, International Medical School, Kartal Dr. Lutfi Kırdar City Hospital, Istanbul, Türkiye; ^cDepartment of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, University of Health Sciences, Umranıye Training and Research Hospital, Istanbul, Türkiye; ^dDepartment of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, University of Health Sciences, Sancaktepe Sehit Prof. Dr. İlhan Varank Training and Research Hospital, Istanbul, Türkiye; ^eDepartment of Internal Medicine, Division of Rheumatology, Yıldırım Beyazıt University School of Medicine, Ankara, Türkiye; ^fDepartment of Clinical Pharmacology, University of Health Sciences, Kartal Dr. Lutfi Kırdar City Hospital, Istanbul, Türkiye; ^gDepartment of Internal Medicine, University of Health Sciences Ankara City Hospital, Ankara, Türkiye; ^hNational Virology Reference Laboratory, General Directorate of Public Health, Ankara, Türkiye; ⁱDepartment of Pharmacology, Medical Faculty, Erciyes University, Kayseri, Türkiye; ^jVaccine Research, Development and Application Center, Erciyes University, Kayseri, Türkiye; ^kDepartment of Microbiology, Medical Faculty, Erciyes University, Kayseri, Türkiye; ^lDivision of Pediatric Infectious Diseases, Department of Pediatrics, Hacettepe University, Ankara, Türkiye; ^mHead of Türkiye Vaccine Institute, Ankara, Türkiye

ABSTRACT

Protective neutralizing antibody titers reduce in time after COVID-19 vaccinations, as in individuals who have had COVID-19. This study aimed to evaluate the safety and immunogenicity of CoronaVac and TURKOVAC vaccines used as a booster dose after CoronaVac primary vaccination. This double-blind, randomized, controlled, phase II, multicenter study included healthy male and female adults (18–60 years) who were vaccinated with two doses of CoronaVac vaccine and did not exceed the duration of at least 90 days and a maximum of 270 days from the second dose of vaccination. Among 236 eligible volunteers, 222 were recruited for randomization between July 12, 2021 and September 10, 2021; 108 and 114 were randomized to the TURKOVAC and CoronaVac arms, respectively. The primary endpoint was adverse events (AEs) (ClinicalTrials.gov; Identifier: NCT04979949). On day 28, at the neutralizing antibody threshold of 1/6, the positivity rate reached 100% from 46.2% to 98.2% from 52.6% in the TURKOVAC and CoronaVac arms, respectively, against the Wuhan variant and the positivity rate reached 80.6% from 8.7% in the TURKOVAC arm vs. 71.9% from 14.0% in the CoronaVac arm against the Delta variant. IgG spike antibody positivity rate increased from 57.3% to 98.1% and from 57.9% to 97.4% in the TURKOVAC and CoronaVac arms, respectively. The TURKOVAC and CoronaVac arms were comparable regarding the frequency of overall AEs. Both vaccines administered as booster yielded higher antibody titers with acceptable safety profiles.

PLAIN LANGUAGE SUMMARY

What is the context?

- The timing of the primary and booster doses for each vaccine differs.
- We aimed to evaluate the safety and immunogenicity of CoronaVac and TURKOVAC vaccines used as homologous booster dose after CoronaVac primary vaccination.

What is new?

- The neutralizing antibody titers against the Wuhan variant decreased below 1/6- the seropositivity threshold value- in more than 55% of the participants 4 months after administration of two doses of CoronaVac vaccine.
- Immunogenicity was re-stimulated and the neutralizing antibody titers increased rapidly and markedly with the administration of the CoronaVac or TURKOVAC as a booster dose 4 months after the second dose.
- While the increase in neutralizing antibodies against the Wuhan variant was similar with both CoronaVac and TURKOVAC, more antibodies developed against the Delta variant with TURKOVAC.

What is the impact?

- With the Hybrid COV-RAPEL TR study, after the primary vaccination consisting of two doses of inactivated vaccine, antibody titers decreased in the long term; however, higher antibody titers are achieved than the primary vaccination after the booster dose administered after 4–6 month interval.

ARTICLE HISTORY

Received 23 May 2022
Revised 31 August 2022
Accepted 3 September 2022

KEYWORDS

Booster vaccine; CoronaVac; COVID-19; inactive; TURKOVAC

CONTACT Ahmet Omma ahmetomma@gmail.com Clinic of Rheumatology, Ankara City Hospital, Ankara 06800, Turkey.

This article has been corrected with minor changes. These changes do not impact the academic content of the article.

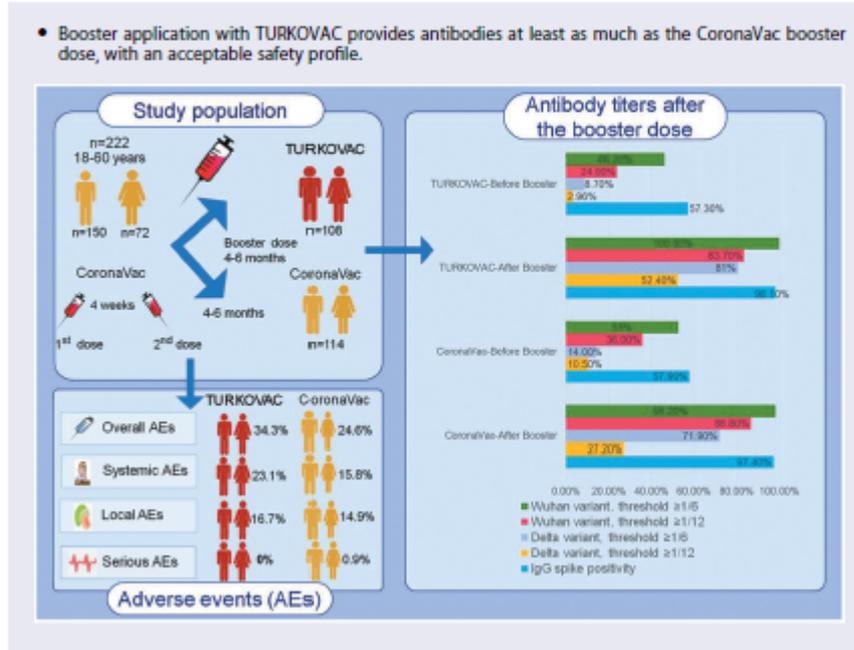
Supplemental data for this article can be accessed on the publisher's website at <https://doi.org/10.1080/21645515.2022.2122503>.

© 2022 The Author(s). Published with license by Taylor & Francis Group, LLC.

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>), which permits non-commercial re-use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, and is not altered, transformed, or built upon in any way.



- Booster application with TURKOVAC provides antibodies at least as much as the CoronaVac booster dose, with an acceptable safety profile.



Introduction

For fighting against the COVID-19 pandemic, many companies have developed vaccines. So far, inactivated vaccines, mRNA vaccines, and adenovirus vaccines have been used worldwide. Inactivated COVID-19 vaccines have shown good safety profiles and protect against COVID-19.¹ In a prospective observational cohort conducted in Chile for investigating the effectiveness of inactivated SARS-CoV-2 vaccine, the adjusted vaccine effectiveness in fully immunized individuals were reported to range from 65.9% (for prevention of COVID-19) to 90.3% (for prevention of intensive care unit admission); the effectiveness was 86.3% for prevention of COVID-19-related death and 87.5% for prevention of hospitalization.¹ On the effectiveness of inactivated COVID-19 vaccines for primary vaccination, consistent results were reported from Türkiye² and China.³ As of 13 January 2021, Türkiye granted emergency use authorization to the CoronaVac vaccine (Sinovac Life Sciences Company, Beijing, China).^{4,5} In Türkiye, an inactivated SARS-CoV-2 vaccine -TURKOVAC- was produced by SBT Science and Biotechnologies and manufactured by Kocak Farma. The product is under development; its preclinical studies has been published^{6,7} and phase II studies have been completed. The phase III comparative efficacy and safety trial (NCT04942405) versus CoronaVac is ongoing. In December 2021, it is authorized for emergency use by the Turkish Medicines and Medical Devices Agency.

The protective effects of inactivated vaccines is usually observed 14 days after the second dose.⁸ However, protective neutralizing antibody titers decrease significantly at 6 months

in patients who have had COVID-19; a similar loss of efficacy can be considered likely to be observed after vaccination.^{9,10} It has been shown that with booster vaccination, higher antibody titers are achieved and protection lasts longer.^{11,12} Although there are no clear data on the timing, booster doses are recommended four to 6 months after the primary vaccination.

During the pandemic, both inactivated CoronaVac and BNT162B2 mRNA vaccines were used in primary vaccination in Türkiye. Individuals who have completed their two dose vaccination with inactivated vaccines, the application of a booster dose is recommended at the 6th month as of July 2021.

This study aimed to evaluate the safety and immunogenicity of CoronaVac and TURKOVAC vaccines used as homologous booster dose after the second dose of CoronaVac primary vaccination.

Patients and methods

This double-blind, randomized, controlled, phase II study was conducted to determine the safety and immunogenicity of booster doses of CoronaVac and TURKOVAC vaccines randomized at a 1:1 ratio to individuals who had two dose vaccination with CoronaVac in Türkiye (ClinicalTrials.gov, NCT04979949). The study was started on 12 July 2021 in Ankara, Türkiye with a single center and was continued with multi-centers. Healthy male or female adults aged 18-60 years, who were vaccinated with two doses of CoronaVac vaccine and did not exceed the duration of at least 90 days and a maximum of 270 days from the second dose of



vaccination, were included (Table S1 in the Supplemental Appendix S1 for other inclusion and exclusion criteria). The clinical trial protocol (Supplemental Material-Study Protocol) and informed consent forms were approved by the Ethics Committee of Ankara City Hospital (No: E2-21-640, Date: 22 June 2021).

Participants were divided into two in a 1:1 ratio. It was planned to randomly recruit at least 111 participants for each vaccine arm. A total of 236 volunteers were screened; 222 volunteers were randomly assigned to receive a single dose of TURKOVAC or CoronaVac vaccine. Age and sex quotas were applied while selecting participants (Table S2 in the Supplemental Appendix S1). Randomization was performed with the Omega Research Randomization and Investigational Product Management System (Omega Interactive Voice Response Systems [IVRS]/Interactive Web Response Systems [IWRs]).

Pre-vaccine PCR testing and blood samples were taken to determine anti-spike antibody levels. Volunteers with positive pre-vaccine PCR test were excluded. Physical examination and vital checks were performed. A single dose of booster vaccine (TURKOVAC or CoronaVac) was injected into the upper arm deltoid muscle (preferably left) of the volunteers. Except the study pharmacist preparing the application product, the study team and volunteers, including the nurse who performed the vaccination, were blinded.

Blood was drawn for immunogenicity analysis at the study visit on day 0 (the day of vaccination or 1 day before the vaccination). Twenty-eight days (± 2 days) after the booster, the amount of changes in SARS-CoV-2 neutralizing antibody and anti-spike protein IgG were evaluated in both groups. SARS-CoV-2 neutralizing antibody and anti-spike protein IgG measurements were repeated on day 84 for both vaccine arms. Volunteers were followed up at least to day 168 for side effect assessment. A virus neutralization test technique was used for SARS-CoV-2 neutralizing antibody detection. The neutralizing antibody threshold values against Wuhan and Delta variants were taken as 1/6 and 1/12 for assessments.¹³

All participants were monitored for post-vaccine adverse events (AEs) and were asked to record any AEs using an electronic diary during the first 14-day follow-up period. Participants were also asked about both expected and undesirable side effects daily for 7 days using IVRS. AEs were recorded as local, systemic, and serious AEs. Undesirable AEs were defined as related or unrelated to study treatment based on criteria of causation, reasonable probability, temporal relationship, and alternative cause. Serious AEs were defined as an adverse reaction resulting in death, life-threatening, requiring or prolonging hospitalization, resulting in persistent or significant disability or reduced capacity. Serious AEs up to day 28 were recorded.

Vaccines used in the study

CoronaVac

COVID-19 Vaccine (Vero Cell) contains SARS-CoV-2 antigen as inactivated active ingredient and is available in pre-filled syringes or vials, dosage is 3 μ g/0.5 mL per injection.

TURKOVAC

TURKOVAC was manufactured using the SARS-CoV-2 strain (hCoV-19/Türkiye/ERAGEM-001/2020 strain, GenBank accession number; MT327745.1 and GISAID; EPI_ISL_424366) isolated from a patient's nasopharyngeal sample in the Kayseri City Training and Research Hospital, Kayseri, Türkiye.¹⁴ The virus was cultivated in a Vero cell line for 72–96 h at multiplicities of infection of 0.05. The data about manufacturing of TURKOVAC have been presented in Phase 1/2 study of TURKOVAC (manuscript submitted for publication). In brief, TURKOVAC COVID-19 vaccine containing inactivated SARS-CoV-2 antigen as an active ingredient is in a white suspension. Dosage is 3 μ g/0.5 mL per injection. Alum Gel (10% ALOH – InvivoGen, USA) was used as adjuvant. It is formulated from a 2% suspension to a final concentration of 0.05% (0.5 mg/dose). It does not contain any preservatives or stabilizers.

Viral isolation for microneutralization test

The Wuhan and Delta strains were used to detect the neutralizing antibody of vaccinated sera in order to evaluate the neutralization ability of vaccine immunization. Original SARS-CoV-2 viruses were isolated from a combined nose and throat swab sample obtained from COVID-19 patients and amplified in Vero E6 (ATCC CRL-1586) cells in the Biosafety Level (BSL-3) laboratory. The virus was named for Wuhan strain as SARS-CoV-2/Türkiye/27/2020 and for Delta strain as hCoV-19/Türkiye/HSGM-B18515/2021 and was passaged twice in Vero E6 cells. Stock virus was harvested, divided, and stored at -80°C until use.

Vero E6 cell line were obtained from American Type Culture Collection (ATCC CRL-1586). Vero E6 cells were maintained using Modified Eagle's medium (MEM Sigma M4655) supplemented with 10% heat-inactivated fetal bovine serum (FBS) (Cegrogen A0500-3210) and 1% penicillin and streptomycin (Cegrogen P0100-790) in an incubator at 37°C under 5% CO_2 and 99% relative humidity.¹⁵

The virus name, accession ID, and date of the collection for the Wuhan strain are hCoV-19/Türkiye/HSGM-1192/2020, EPI_ISL_811143, and 2020, respectively. The virus name, accession ID, and date of collection for the Delta strain are hCoV-19/Türkiye/HSGM-B18515/2021, EPI_ISL_2958539, and 2021, respectively.

Titration of virus was performed in 96-well microtiter plates (Greiner Cellstar, 96 well, F bottom, single packed/ 655,160) on Vero E6 cells at serial log₁₀ dilutions and 10 times for each dilution factor to obtain a 50% tissue culture infectious dose (TCID₅₀, diluted serum inhibiting 50% of infectiousness). Plates were observed for cytopathic effect (CPE) daily for 4 days (96 hours). The endpoint of viral dilution leading to CPE in 50% of the inoculated wells was calculated using the Reed-Muench method.¹⁶

Virus neutralization test technique (Microneutralization test)

Serum samples were studied by microneutralization test (MNT) at the General Directorate of Public Health,



National Virology Reference Laboratory. Blood serum samples were inactivated at 56°C for 30 min. In 96-well microplates, sera were serially diluted two-fold in duplicate starting at 1:2 in MEM (Sigma M4655) supplemented with 2% heat-inactivated FBS (Cegrogen A0500–3210) and 1% penicillin and streptomycin (Cegrogen P0100–790). Then, sera mixed with the same volume of 100 TCID₅₀ SARS-CoV-2 (approximately 1:100 diluted virus) propagated as described above and incubated at 37°C for 1 hour for neutralization. This step has been performed with Wuhan and Delta strains concurrently in different cell culture microplates. After incubation, 100 µL Vero E6 cells at a concentration of 2 × 10⁵/mL in Dulbecco's MEM supplemented with 2% heat-inactivated FBS and 1% penicillin/streptomycin were added to the virus – serum mixture, and plates were incubated for 96 h at 37°C under 5% CO₂ and 99% relative humidity. Virus dilution was back titrated by replacing serum with medium in each experiment to determine the virus test dose. The neutralization endpoint titer was determined as the highest serum dilution inhibiting the virus infection in 50% of the inoculated wells.¹⁷ The MNT titer ≥4 was considered positive. The test was checked for virus and cell control with a phase contrast cell culture microscope and was evaluated as positive when 100% of SARS-CoV-2-specific CPE was observed in the virus control section. Figure S1 in the Supplemental Appendix S1 shows the main steps of MNT.

While each center performed the SARS-CoV-2 PCR tests, anti-spike protein IgG tests were performed at the Ankara City Hospital Medical Microbiology Clinic Laboratory. SARS-CoV-2 neutralizing antibody tests were conducted in the National Virology Reference Laboratory of the Turkish Ministry of Health, General Directorate of Public Health.

Measurement of anti-spike IgG level

A fully automated two-step sandwich immunoassay using indirect chemiluminescent technology was performed to measure anti-spike IgG levels (Atellica IM sCOVG Assay, Siemens Healthineers, Erlangen, Germany). A direct relationship exists between the amount of SARS-CoV-2 IgG antibody present in the blood sample and the amount of relative light units detected by the system. The analytical assay range of 0.50–150.00 index is reported as nonreactive (<1.00 index) or reactive (≥1.00 index). The cutoff value of the test is ≥1 U/mL (1 index value) and the corresponding reference standard concentration for 1 U/mL is 21.80 BAU/mL.

Outcomes

The primary endpoint was to determine the number, severity, and rate of volunteers experiencing AEs and serious AEs. The secondary endpoint was the immunogenicity response at day 28 of the inactivated vaccine against SARS-CoV-2. This response was calculated on the geometric mean of the titer of SARS-CoV-2 neutralizing antibody and IgG antibody against the spike protein antigen, and seroconversion was evaluated as a 4-fold increase in this titer after vaccination.

Statistical analysis

Sample size calculation was based on the primary analysis of anti-spike protein IgG at day 28 post-vaccination using the following assumptions: 1) the minimum clinical difference to be detected is 1.75 times the difference in geometric mean concentration between the COVID-19 vaccine and the control arm, i.e. 0.243 on a log₁₀ scale; 2) the standard deviation of the geometric mean concentration on the log₁₀ scale is 0.4. Accordingly, the estimated sample size in each arm was 83 participants to achieve a 90% power at 1% significance level. Assuming approximately a drop-out rate of 25% for the primary analysis due to the positivity of baseline anti-nucleocapsid IgG or loss to follow-up, 111 volunteers were included in each study arm.

Data were analyzed using the PASW Statistics for Windows, Version 18.0. (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). A *p* value of <.05 was considered statistically significant. Descriptive statistics were presented as numbers and percentages for categorical variables and mean, standard deviation, and median, and interquartile range (IQR) for numerical variables. Normality of variables was tested using visual (histogram and probability graphs) and analytical methods (Kolmogorov-Smirnov /Shapiro-Wilk tests). The amount of SARS-CoV-2 neutralizing antibody and SARS-CoV-2 anti-spike protein IgG on days 0 and 28 in both vaccine arms were presented descriptively. The incidence of adverse reactions within 7 days post-vaccination and the incidence of serious AEs up to day 28 post-vaccination were expressed separately in the vaccine groups as descriptive statistics. The incidence of reactions was compared between the two study arms using the chi-square test for overall, systemic, and local AEs.

Results

Among 236 volunteers assessed for eligibility, 222 were recruited (Figure 1). Accordingly, 108 and 114 were randomized to the TURKOVAC and CoronaVac arms, respectively. The characteristics of the volunteers are presented in Table 1.

The median neutralizing antibody titers were increased by 32 times for the Wuhan variant and by 12 times for the Delta variant in the TURKOVAC arm and by 4 times for the Wuhan variant and by 6 times for the Delta variant in the CoronaVac arm. Taking the neutralizing antibody threshold value against the Wuhan variant as 1/6, the positivity rate reached 100% from 46.2% in the TURKOVAC arm and to 98.2% from 52.6% in the CoronaVac arm on day 28 (Figure 2(a)). Taking the threshold value as 1/12, the positivity rate reached 83.7% from 24.0% in the TURKOVAC arm and to 86.8% from 36.0% in the CoronaVac arm. In the analysis of the neutralizing antibody response against the Delta variant, taking the threshold value as 1/6, the positivity rate increased to 80.6% from 8.7% in the TURKOVAC arm and to 71.9% from 14.0% in the CoronaVac arm on day 28 (Figure 2(b)). Taking the threshold value as 1/12, the positivity rate increased to 52.4% from 2.9% in the TURKOVAC arm and to 27.2% from 10.5% in the CoronaVac arm.

Evaluation of the IgG spike antibody positivity rate revealed that the rate increased from 57.3% to 98.1% in

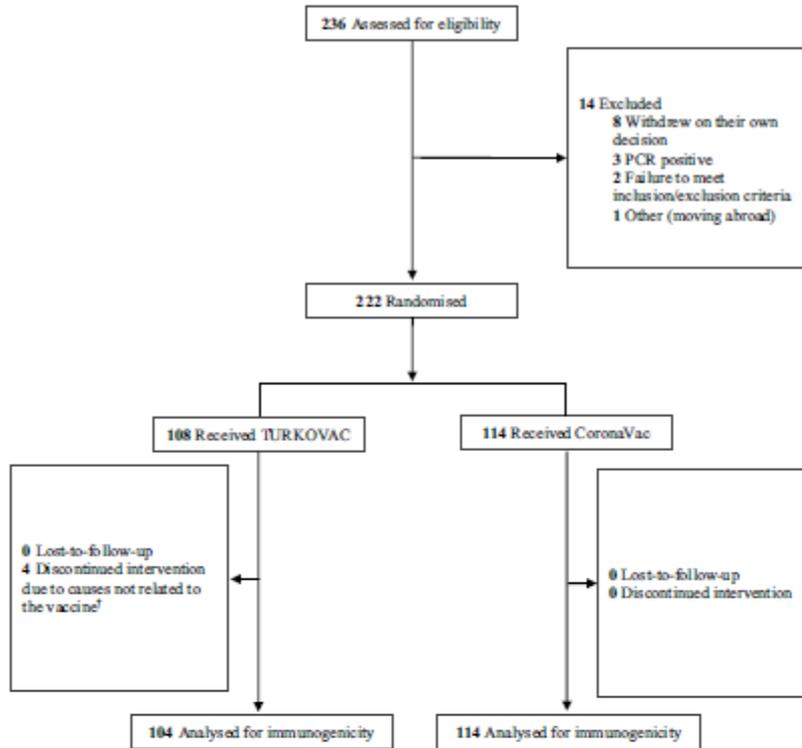


Figure 1. Study flowchart. †The median time elapsed after vaccination was 21 days (IQR, 13). Of four volunteers, three were males and one was female; the median age was 40.5 years (IQR, 17.25).

the TURKOVAC arm and from 57.9% to 97.4% in the CoronaVac arm (Figure 2(c)). The median spike specific (IgG-S) antibody level was 1.30 U/mL (0.1–150) before the booster dose and 26.69 U/mL (0.5–150 U/mL) after the booster dose in the TURKOVAC arm on day 28 (Table 2). The median IgG-S level was 1.30 U/mL (0.31–150 U/mL) before the booster dose and 12.38 U/mL (0.71–150 U/mL) after the booster dose in the CoronaVac arm on day 28 (Table 2). The IgG-S levels in BAU/mL for before and after booster doses in the TURKOVAC and CoronaVac arm are presented in the Supplemental Appendix 2 (Table S1, Figure S1 and Figure S2). The proportions of volunteers in whom a four times increase was observed in the IgG-S antibody levels on day 28 were 82.5% after the TURKOVAC booster dose and 64.9% after the CoronaVac booster dose.

The neutralizing antibody geometric mean titer (GMT) results are summarized in Table 3 (95% confidence interval [CI]). For Wuhan variant, the GMT was 13.98 (10.77–18.13) before the booster dose and 33.97 (27.77–41.54) after the booster dose in the TURKOVAC arm; it was 16.58 (13.12–20.95) before the booster dose and 27.92 (23.37–33.35) after the booster dose in the CoronaVac arm. For Delta variant, the GMT was 12 (6.51–22.14) before the booster dose and 14.36 (11.83–17.43) after the booster dose in the TURKOVAC arm; it

was 12 (9.09–15.84) before the booster dose and 10.49 (8.97–12.28) after the booster dose in the CoronaVac arm.

When the antibody responses were evaluated for sex, antibody formation against the Wuhan and Delta variants at 1/6 and 1/12 threshold values, and IgG-S antibody formation were close to each other in the female and male volunteers (Figures S3–S5 in the Supplemental Appendix S2).

When the volunteers were grouped for the age ranges of 18–29, 30–39, 40–49, and 50–60 years, the 28th day neutralizing antibody levels against the Wuhan variant and the frequency of occurrence of IgG-S antibody response were similar in all age groups in both groups (Figures S6 and S8 in the Supplemental Appendix S2). Neutralizing antibody positivity to the Delta variant was higher in the TURKOVAC arm in all age groups (Figure S7 in the Supplemental Appendix S2).

Figure S9–S13 in the Supplemental Appendix S2 show neutralizing antibody positivity against the Wuhan and Delta variants and IgG-S antibody responses in case the volunteers were grouped for the interval between the second dose of the primary vaccination and the booster-dose administration, as less than or more than 120 days, and less than or more than 180 days.

The frequencies of developing an antibody response to the Wuhan variant and IgG-S antibodies on the day 28 were close



Table 1. Characteristics of the study participants.

	TURKOVAC (n = 108)	CoronaVac (n = 114)	p value
Age, years, Median (IQR)	39.0 (11)	38.5 (14)	.5133
Age, years, Mean (SD)	40 (8)	39 (9)	.5133
Volunteers by age groups, n (%)			
18–44 years	71 (65.7)	80 (70.2)	.4789*
Female/Male	21 (29.6)/50 (70.4)	26 (32.5)/54 (67.5)	
45–60 years	37 (34.3)	34 (29.8)	
Female/Male	13 (35.1)/24 (64.9)	12 (35.3)/22 (64.7)	
18–29 years	13 (12.0)	20 (17.5)	.5873**
Female/Male	4 (30.8)/9 (69.2)	10 (50)/10 (50)	
30–39 years	44 (40.7)	39 (34.2)	
Female/Male	14 (31.8)/30 (68.2)	11 (28.2)/28 (71.8)	
40–49 years	37 (34.3)	38 (33.3)	
Female/Male	9 (24.3)/28 (75.7)	10 (26.3)/28 (73.7)	
50–60 years	14 (13.0)	17 (14.9)	
Female/Male	7 (50.7)/7 (50)	7 (41.2)/10 (58.8)	
Volunteers by sex, n (%)			
Female	34 (31.5)	38 (33.3)	.7682
Male	74 (68.5)	76 (66.7)	
Body mass index, kg/m², n (%)	26.9 (4.34)	26.0 (4.5)	
<30	87 (82.9)	102 (89.5)	.1548
≥30	18 (17.1)	12 (10.5)	
Smoking, No. (%)	52 (48.1)	56 (49.1)	.8845
Presence of comorbidities, No. (%)	26 (24.1)	28 (24.6)	.9325
Hypertension	6 (5.6)	8 (7.0)	-
Diabetes	2 (1.9)	3 (2.6)	-
Cardiovascular diseases***	1 (0.9)	1 (0.9)	-
Psoriasis	1 (0.9)	1 (0.9)	-
Asthma	1 (0.9)	(0)	-
Cancer	1 (0.9)	(0)	-
Other	14 (13.0)	15 (13.2)	-
The interval between the 2nd and 3rd doses (months), median (IQR)	4.9 (2.48)	4.5 (2.4)	.7348
Before 4 months, n (%)	47 (43.5)	50 (43.9)	.9591
4 months and after, n (%)	61 (56.5)	64 (56.1)	
Before 6 months, n (%)	92 (85.2)	92 (80.7)	.3753
6 months and after, n (%)	16 (14.8)	22 (19.3)	

*for comparison between 18–44 years and 45–60 years age groups; **for comparison between 18–29 years, 30–39 years, 40–49 years, and 50–60 years groups; †coronary heart disease, congestive heart failure and arrhythmia.

to each other in the TURKOVAC and CoronaVac arms, while the percentage of volunteers who developed an antibody response to the Delta variant was higher in the TURKOVAC arm than the CoronaVac arm, particularly for the threshold value of 1/12.

Table 4 and Figures S14–S16 in the Supplemental Appendix S2 show frequency of AEs observed after TURKOVAC and CoronaVac booster vaccines and Table S2 in the supplemental Appendix S2 shows frequency of AEs according to sex. In terms of the frequency of overall AEs, there is no difference between the TURKOVAC and CoronaVac booster vaccine groups (37 [34.3%] vs. 28 [24.6%], $p = .1124$). In addition, when local and systemic AEs were examined separately, no difference was observed between the TURKOVAC and CoronaVac booster vaccine groups (18 [16.7%] vs. 17 [14.9%], $p = .8616$; 25 [23.1%] vs. 18 [15.8%], $p = .1655$). Regarding serious AEs, while no serious AEs were observed in the TURKOVAC arm, 1 (0.9%) subject in the CoronaVac arm experienced post-vaccine hospitalization due to COVID-19.

Discussion

The results of the study revealed that the neutralizing antibody titers against the Wuhan variant decreased below the seropositivity threshold value of one-sixth in more than 55% of the volunteers 4 months after administration of two doses of CoronaVac vaccine. However, with the administration of the third dose inactivated vaccines (CoronaVac or TURKOVAC as a booster dose), immunogenicity was re-stimulated and the neutralizing antibody titers increased rapidly and markedly. While the CoronaVac and TURKOVAC arms did not differ regarding the increase in neutralizing antibodies against the Wuhan variant, more antibodies developed against the Delta variant in the TURKOVAC arm.

Administration of inactivated vaccines as a booster dose has demonstrated an acceptable and manageable reactogenicity profile, with no significant safety concerns.¹⁸ Memory T cells play a critical role in viral infections. When antigen-specific memory T cells encounter the same antigen again, they proliferate rapidly, both exerting a cytotoxic effect against infected cells and stimulating the activation of antigen-specific B cell clones and thus the formation of neutralizing antibodies.¹⁹ Accordingly, booster-dose applications may increase the induction capacity of the adaptive immune system.²⁰ It was previously reported in a study conducted on Macedonian healthcare workers that seropositive individuals yielded higher antibody levels than those of seronegative individuals after a single dose of BNT162b2²¹ which may be suggestive for the efficiency of booster doses after primary vaccination and also supports our study regarding the rationale for the administration of booster doses.

The immune response produced particularly by inactivated vaccines may be weaker and short-lived compared to other vaccine groups. Waning of humoral response over time and need for a booster dose are also known for mRNA COVID-19 vaccines.²² Therefore, intermittent booster doses are needed for strengthening and maintaining the protective effects of vaccines.²³ In a study of 355 volunteers, positive seroconversion rate of serum neutralizing antibody reached 88.5% 1 month after the second dose of inactivated SARS-CoV-2 vaccine. However, the seropositivity rate decreased to 48.5% in the same volunteers 8 months after the second dose.²⁴ In our study, at a threshold value of one-sixth for the Wuhan variant, following the second dose, the seropositivity rate regressed to 44.7% after 4 months and it was 48.6% after 6 months. After inactivated SARS-CoV-2 vaccination, the positive seroconversion rate was less than 50% 4–6 months after the second dose.

For inactivated vaccines that are considered insufficient against different strains, a booster dose may be necessary to maintain effective protection. In our study, similar responses were obtained for the neutralizing antibody levels produced by the TURKOVAC and CoronaVac vaccines against the Wuhan variant at titer threshold values of 1/6 and 1/12 (100% vs. 98.2%; 83.7% vs. 86.8%, respectively). However, the TURKOVAC arm had higher response rates than the CoronaVac arm for the Delta variant at titer threshold values of 1/6 and 1/12 (80.6% vs. 71.9%; 52.4% vs. 27.2%, respectively). This finding can be resulted from the fact that the virus used in

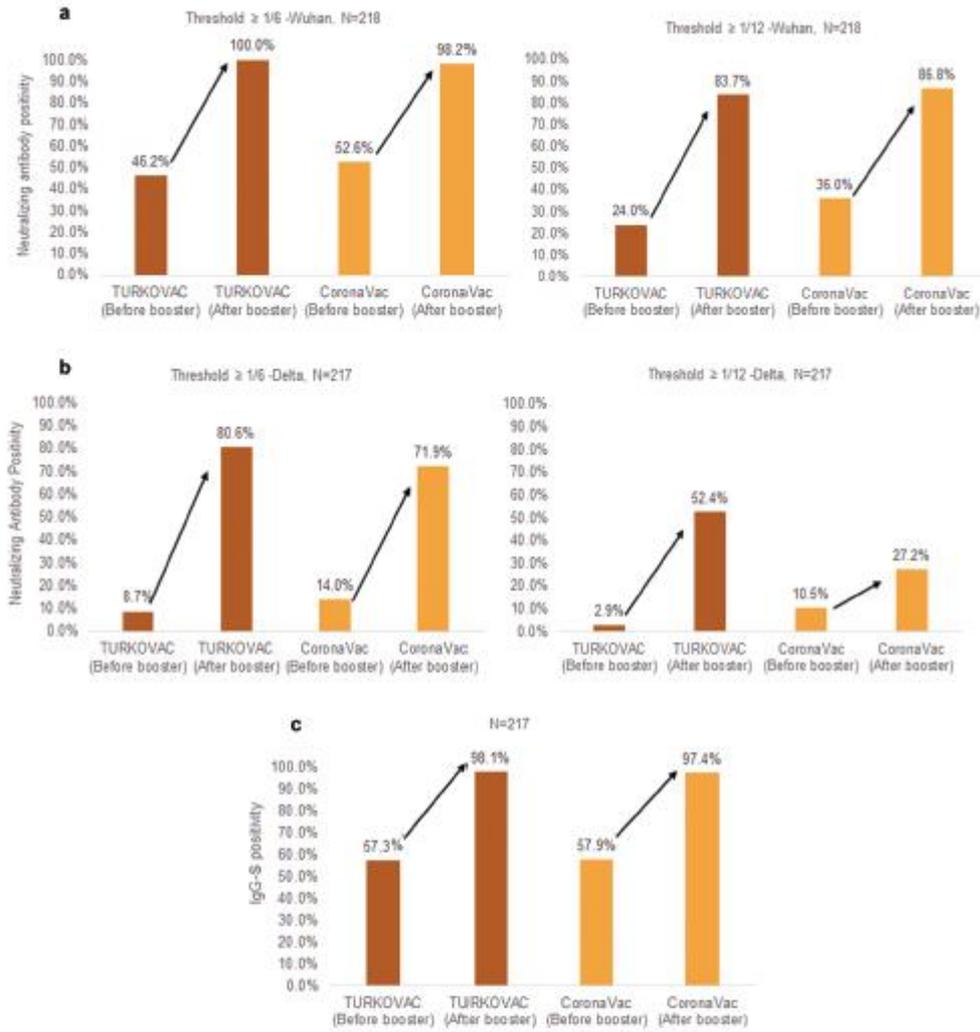


Figure 2. Neutralizing antibody positivity against the (a) Wuhan and (b) Delta variants, and (c) immunoglobulin G-Spike (IgG-S) positivity before and after booster doses in the two study arms.

TURKOVAC vaccine was isolated in the later periods of the pandemic (March 2020) as compared with the one used in CoronaVac. However, this possibility is highly controversial, and no supportive data are available. The main reason for higher neutralizing antibody levels by TURKOVAC against the Delta variant may be associated with higher level of aluminum hydroxide adjuvant in TURKOVAC than in the CoronaVac.

The inverse correlation between neutralizing antibody titers and risk of reinfection has been demonstrated in more than one phase III study.²⁵ The BNT162b2 booster dose increases the neutralizing antibody levels by an

average of 10 times compared to the antibody levels after the second dose.²⁶ In an inactivated vaccine study conducted on 355 volunteers, in 67 volunteers who received a booster dose (third dose) 8 months after the primary two dose vaccinations, the positive conversion rate decreased from 86.6% to 65.7% 8 months after the second dose, and increased to 95.5% after the booster dose.²⁴ In the light of these results, it should be kept in mind that higher antibody titers can be obtained after booster dose compared to primary. Our study was also supportive of the other studies and revealed that the positive conversion rate decreased to 46.2% at the threshold value of one-sixth against the



Table 2. Change in spike-specific immunoglobulin G antibody levels before and after the booster doses.

Immunoglobulin G level, U/mL	All volunteers		TURKOVAC		CoronaVac		p value
	N	Median (IQR)	N	Median (IQR)	N	Median (IQR)	
Before booster dose	222	1.30 (2.02)	108	1.30 (1.82)	114	1.30 (2.38)	.3397
After booster dose	217	16.90 (44.98)	103	26.69 (88.13)	114	12.38 (19.04)	.0002

IQR: interquartile range.

Table 3. Neutralizing antibody geometric mean titer results.

	All volunteers GMT (95% CI)	TURKOVAC GMT (95% CI)	CoronaVac GMT (95% CI)
Wuhan variant			
Before booster dose	15.34 (12.82–18.36)	13.98 (10.77–18.13)	16.58 (13.12–20.95)
After booster dose	30.68 (26.76–35.18)	33.97 (27.77–41.54)	27.92 (23.37–33.35)
Delta variant			
Before booster dose	12 (8.6–16.74)	12 (6.51–22.14)	12 (9.09–15.84)
After booster dose	12.3 (10.85–13.94)	14.36 (11.83–17.43)	10.49 (8.97–12.28)

GMT, geometric mean titer; CI, confidence interval.

Wuhan Variant, after a median 4.85 months after the second dose, and increased to 100% after the TURKOVAC booster dose. The positive conversion rate decreased to 52.6% for the one-sixth threshold value, after a median 4.5 months from the second dose, and increased to 98.2% after the CoronaVac booster dose.

The capacity of vaccines to create spike-specific antibodies also gains importance. It has been reported that spike-specific IgG antibody levels increased from an average of 710 U/mL to 40,000 U/mL with a single booster dose of BNT162b administered after 15 months in patients who have had COVID-19 infection.²⁷ In a study from Türkiye, in healthcare workers (mean age, 41 ± 10.9 years) who were administered with inactivated SARS-CoV-2 vaccines, the median IgG-S levels, which were found as 547.7 AU/mL (IQR: 756.7) after the second dose, increased to a median of

947.3 AU/mL (IQR: 1405.3) after the third booster dose.²⁸ In our study, the median IgG-S level, which was 1.30 (1.82) after a median 4.85 months after the second dose, increased to a median 26.69 (88.13) after the TURKOVAC booster dose. The median IgG-S level, which was 1.30 (2.38) after a median of 4.5 months after the second dose of CoronaVac vaccine, increased to 12.38 (19.04) after CoronaVac booster vaccination. In a study conducted in Israel, the frequency of infection was 11.3 times lower in volunteers who received a booster dose in addition to primary vaccination with BNT162b2 compared to those who did not [Booster group: 10,603,410 persons at risk—934 cases per day; Non-booster group: 5,193,825 persons at risk—4439 cases per day, 95% CI (10.4–12.3)].²⁹ Similarly, the frequency of severe disease was found to be less in the booster group [Booster group: 6,265,361 people at risk—29 cases per day; Non-booster group: 4,574,439 people at risk—294 cases per day, 95% CI (12.9–29.5)].²⁹

In our study, responses of male and female volunteers to vaccines did not significantly differ regarding variant types (Wuhan and Delta variant), antibody types, and titers. The booster vaccine responses to the Wuhan variant of both TURKOVAC and CoronaVac arms were similar for age groups. However, when the responses to the Delta variant were evaluated, the booster vaccine response was higher in the TURKOVAC arm than in the CoronaVac arm, especially after the age of 40 years. Additionally, this study demonstrated that antibody positivity was relatively higher when the time elapsed after vaccination was short, and the antibody loss was higher when the time elapsed after vaccination was long; however, antibody response with booster doses was similar in both study arms (Figures S9–S11 in the Supplemental Appendix S2).

An increase in the incidence of local and systemic adverse reactions has been reported with the second dose of mRNA vaccines as compared with the first dose.¹⁸ In our study, in both TURKOVAC and CoronaVac arms, the most commonly reported adverse event was injection site pain and the most common systemic adverse event was fatigue.

The important limitations of our study include small sample size, inclusion of volunteers aged <60 years, and exclusion of

Table 4. Frequency of adverse events in the two study arms.

	TURKOVAC	CoronaVac	p value
Adverse Events, n (%)	37 (34.3)	28 (24.6)	.1124
Local adverse events, n (%)	18 (16.7)	17 (14.9)	.8616
Pain at the injection site	12 (11.1)	10 (8.8)	
Arm pain	6 (5.6)	4 (3.5)	
Myalgia at the injection site	0 (0)	2 (1.8)	
Induration	1 (0.9)	1 (0.9)	
Pruritus at the injection site	0 (0)	1 (0.9)	
Systemic adverse events, n (%)	25 (23.1)	18 (15.8)	.1655
Fatigue	7 (6.5)	8 (7.0)	
Headache	5 (4.6)	3 (2.6)	
COVID-19 positivity	7 (6.5)	4 (3.5)	
Myalgia	3 (2.8)	4 (3.5)	
Upper respiratory tract infection	3 (2.8)	6 (5.3)	
Diarrhea	2 (1.9)	3 (2.6)	
Pain	3 (2.8)	0 (0)	
Sore throat	0 (0)	3 (2.6)	
Chest pain	1 (0.9)	2 (1.8)	
Fever	1 (0.9)	1 (0.9)	
Nasal drainage	1 (0.9)	1 (0.9)	
Asthenia	1 (0.9)	(0)	
Pruritus	1 (0.9)	(0)	
Rash	0 (0)	1 (0.9)	
Tinnitus	1 (0.9)	0 (0)	
Shortness of breath	1 (0.9)	0 (0)	
Excessive breathing	0 (0)	1 (0.9)	
Chills	0 (0)	1 (0.9)	



special populations such as young adolescents, children, and pregnant women. Additionally, our study only examined the immune responses of healthy adults. Individuals who may be more susceptible to infection and at higher risk for severe diseases due to underlying additional medical conditions were not studied. Another limitation of the present study can be considered the lack of the results of neutralization assay of the Omicron variant. Finally, the vaccine response was evaluated with neutralizing antibody titers, only 1/6 and 1/12 neutralizing antibody threshold values were used, and no examination method was used to directly show T cell responses., all of which can also be considered limitations of the present study.

Conclusively, vaccination is the most effective, safe, economical, and rational approach to prevent infectious diseases today. In the SARS-CoV-2 pandemic, with the awareness that "no one is safe until everyone is safe," it is important to sustain protective immunity until the epidemic is completely taken under control.³⁰ Booster doses will be needed.

Acknowledgments

The authors thank the Health Institutes of Türkiye (TUSEB) for funding the study. The authors also thank OMEGA CRO, Ankara, Türkiye for representing TUSEB and for their contribution to the correspondence between the study investigators, the ethics committee, and the Ministry of Health; additionally for performing the monitoring, management of the study sites, storage, and distribution of the consumables, provision of OpenClinica- an open source clinical trial software serving for the purpose of clinical data management and electronic data capture, developing electronic case report forms, the interactive web response system (IWRS), and the interactive voice response system (IVRS) and data management, statistical analyses, and overall project management, and manuscript formatting support.

Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the author(s).

Funding

This study was funded by the Health Institutes of Türkiye (TUSEB).

Author contributions

IA and AK conceptualized and coordinated the study. AO and IA had full access to all the data in the study and takes responsibility for the integrity of the data and the accuracy of the data analysis. AO, AE, IA, and AK drafted the article. IA and AK revised the manuscript critically for important intellectual content. All authors contributed to the acquisition of data. All authors had full access to all the data in the study and had final responsibility for the decision to submit for publication.

Data sharing statement

Anonymous participant data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

Role of the funder

The TUSEB provided funding for the present study; approved the final protocol, the manuscript, and gave permission to submit it for

publication, but had no role in data collection, analysis, interpretation, or writing of the manuscript.

ORCID

Ahmet Omma <http://orcid.org/0000-0003-2582-7445>
Ayse Batirel <http://orcid.org/0000-0002-6005-636X>
Mehtap Aydin <http://orcid.org/0000-0003-4044-9366>
Fatma Yilmaz Karadag <http://orcid.org/0000-0003-4657-5291>
Abdulsamet Erden <http://orcid.org/0000-0002-8084-2018>
Orhan Kucukshahin <http://orcid.org/0000-0003-4530-2304>
Berkan Armagan <http://orcid.org/0000-0003-4409-059X>
Serdar Can Güven <http://orcid.org/0000-0003-1965-9756>
Ozlem Karakas <http://orcid.org/0000-0002-3031-3353>
Selim Gokdemir <http://orcid.org/0000-0003-4551-3013>
Lutfiye Nilsun Altunal <http://orcid.org/0000-0003-4794-9283>
Aslihan Ayse Buber <http://orcid.org/0000-0003-3518-7058>
Emin Gemcioglu <http://orcid.org/0000-0001-9751-8452>
Oguzhan Zengin <http://orcid.org/0000-0001-6575-4450>
Osman Inan <http://orcid.org/0000-0002-8717-3013>
Enes Seyda Sahiner <http://orcid.org/0000-0003-4552-0387>
Gulay Korukluoglu <http://orcid.org/0000-0001-7625-6350>
Zafer Sezer <http://orcid.org/0000-0003-4858-3906>
Aykut Ozdarendeli <http://orcid.org/0000-0002-6950-8545>
Ates Kara <http://orcid.org/0000-0002-1654-3232>
Ihsan Ates <http://orcid.org/0000-0003-2858-6229>

References

1. Jara A, Undurraga EA, González C, Paredes F, Fontecilla T, Jara G, Pizarro A, Acevedo J, Leo K, Leon F, et al. Effectiveness of an inactivated SARS-CoV-2 vaccine in Chile. *N Engl J Med*. 2021;385(10):875–84. doi:10.1056/NEJMoa2107715.
2. Tanriover MD, Doğanay HL, Akova M, Güner HR, Azap A, Akhan S, Köse Ş, Erdinç FŞ, Akalin EH, Tabak ÖF, et al. Efficacy and safety of an inactivated whole-virion SARS-CoV-2 vaccine (CoronaVac): interim results of a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial in Turkey. *Lancet*. 2021;398(10296):213–22. doi:10.1016/S0140-6736(21)01429-X.
3. Zhang Y, Zeng G, Pan H, Li C, Hu Y, Chu K, Han W, Chen Z, Tang R, Yin W, et al. Safety, tolerability, and immunogenicity of an inactivated SARS-CoV-2 vaccine in healthy adults aged 18–59 years: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1/2 clinical trial. *Lancet Infect Dis*. 2021;21(2):181–92. doi:10.1016/S1473-3099(20)30843-4.
4. Sharma O, Sultan AA, Ding H, Triggler CR. A review of the progress and challenges of developing a vaccine for COVID-19. *Front Immunol*. 2020;11:585354. doi:10.3389/fimmu.2020.585354.
5. Genetic Engineering & Biotechnology News. Sinovac biotech – CoronaVac; 2020 May 18. [accessed 2021 Nov 29]. <https://www.genengnews.com/covid-19-candidates/covid-19-keeping-an-eye-on/sinovac-biotech/>.
6. Pavel STI, Yetiskin H, Uygut MA, Aslan AF, Aydın G, İnan O, Kaplan B, Ozdarendeli A. Development of an inactivated vaccine against SARS CoV-2. *Vaccines (Basel)*. 2021;9(11):1266. doi:10.3390/vaccines9111266.
7. Pavel STI, Yetiskin H, Aydın G, Holyavkin C, Uygut MA, Dursun ZB, Celik I, Cevik C, Ozdarendeli A. Isolation and characterization of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 in Turkey. *PLoS One*. 2020;15(9):e0238614. doi:10.1371/journal.pone.0238614.
8. Al Kaabi N, Zhang Y, Xia S, Yang Y, Al Qahtani MM, Abdulrazzaq N, Al Nusair M, Hassany M, Jawad JS, Abdalla J, et al. Effect of 2 inactivated SARS-CoV-2 vaccines on symptomatic COVID-19 infection in adults: a randomized clinical trial. *JAMA*. 2021;326(1):35–45. doi:10.1001/jama.2021.8565.
9. Anand SP, Prévost J, Nayrac M, Beaudoin-Bussières G, Benlarbi M, Gasser R, Brassard N, Laumaea A, Gong SY, Bourassa C, et al.



- Longitudinal analysis of humoral immunity against SARS-CoV-2 spike in convalescent individuals up to 8 months post-symptom onset. *Cell Rep Med*. 2021;2(6):100290. doi:10.1016/j.xcrm.2021.100290.
- Widge AT, Rouphead NG, Jackson LA, Anderson EJ, Roberts PC, Makhene M, Chappell JD, Denison MR, Stevens LJ, Pruijssers AJ, et al. Durability of responses after SARS-CoV-2 mRNA-1273 vaccination. *N Engl J Med*. 2021;384(1):80–82. doi:10.1056/NEJMc2032195.
 - Zinkernagel RM. On natural and artificial vaccinations. *Annu Rev Immunol*. 2003;21(1):515–46. doi:10.1146/annurev.immunol.21.120601.141045.
 - Pollard AJ, Bijker EM. A guide to vaccinology: from basic principles to new developments. *Nat Rev Immunol*. 2021;21(2):83–100. doi:10.1038/s41577-020-00479-7.
 - Wang X, Guo X, Xin Q, Pan Y, Hu Y, Li J, Chu Y, Feng Y, Wang Q. Neutralizing antibody responses to severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 in coronavirus disease 2019 inpatients and convalescent patients. *Clin Infect Dis*. 2020;71(10):2688–94. doi:10.1093/cid/ciaa721.
 - Pavel STI, Yetiskin H, Aydin G, Holyavkin C, Uygut MA, Dursun ZB, Celik I, Cevik C, Ozdarendeli A, Li K. Isolation and characterization of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 in Türkiye. *PLoS One*. 2020;15(9):e0238614. doi:10.1371/journal.pone.0238614.
 - Perera RA, Mok CK, Tsang OT, Lv H, Ko RL, Wu NC, Yuan M, Leung WS, Chan JM, Chik TS, et al. Serological assays for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2), March 2020. *Euro Surveill*. 2020;25(16):2000421. doi:10.2807/1560-7917.ES.2020.25.16.2000421.
 - Reed LJ, Muench H. A simple method of estimating fifty percent end points. *Am J Hyg*. 1938;27:493–97. doi:10.1093/oxfordjournals.aje.a118408.
 - World Health Organization. Laboratory Procedures, Serological detection of avian influenza A(H7N9) infections by microneutralization assay; 2013 May 23. [accessed 2022 July 29]. [https://www.who.int/publications/m/item/serological-detection-of-avian-influenza-a\(h7n9\)-infections-by-microneutralization-assay](https://www.who.int/publications/m/item/serological-detection-of-avian-influenza-a(h7n9)-infections-by-microneutralization-assay).
 - Lee YW, Lim SY, Lee JH, Lim JS, Kim M, Kwon S, Joo J, Kwak SH, Kim EO, Jung J, et al. Adverse reactions of the second dose of the BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine in healthcare workers in Korea. *J Korean Med Sci*. 2021;36(21):e153. doi:10.3346/jkms.2021.36.e153.
 - Swain SL, McKinstry KK, Strutt TM. Expanding roles for CD4+ T cells in immunity to viruses. *Nat Rev Immunol*. 2012;12(2):136–48. doi:10.1038/nri3152.
 - Choi A, Koch M, Wu K, Chu L, Ma L, Hill A, Nunna N, Huang W, Oestreicher J, Colpitts T, et al. Safety and immunogenicity of SARS-CoV-2 variant mRNA vaccine boosters in healthy adults: an interim analysis. *Nat Med*. 2021;27(11):2025–31. doi:10.1038/s41591-021-01527-y.
 - Brnjarchevska Blazhevaska T, Babačić H, Sibinowska O, Dobrevski B, Kirijas M, Milanovski G, Arsov T, Petlichkovski A. A single dose of BNT162b2 vaccine elicits strong humoral response in SARS-CoV-2 seropositive individuals. *Allergy*. 2022;77(1):296–98. doi:10.1111/all.15047.
 - Levin EG, Lustig Y, Cohen C, Fluss R, Indenbaum V, Amit S, Doolman R, Asraf K, Mendelson E, Ziv A, et al. Waning immune humoral response to BNT162b2 Covid-19 vaccine over 6 months. *N Engl J Med*. 2021;385(24):e84. doi:10.1056/NEJMoa2114583.
 - Kara A. Genel İmmünizasyon Prensipleri. *Cocuk Enfeksiyon Dergisi* 2(Suppl 1). 2008:3–14. [Article in Turkish].
 - Yue L, Xie T, Yang T, Zhou J, Chen H, Zhu H, Li H, Xiang H, Wang J, Yang H, et al. A third booster dose may be necessary to mitigate neutralizing antibody fading after inoculation with two doses of an inactivated SARS-CoV-2 vaccine. *J Med Virol*. 2022;94(1):35–38. doi:10.1002/jmv.27334.
 - Khoury DS, Cromer D, Reynaldi A, Schlub TE, Wheatley AK, Juno JA, Subbarao K, Kent SJ, Triccas JA, Davenport MP. Neutralizing antibody levels are highly predictive of immune protection from symptomatic SARS-CoV-2 infection. *Nat Med*. 2021;27(7):1205–11. doi:10.1038/s41591-021-01377-8.
 - Pfizer quarterly corporate performance — second quarter 2021; 2021 July 28 [accessed 2021 Nov 29]. <https://investors.pfizer.com/events-and-presentations/event-details/2021/Pfizer-Quarterly-Corporate-Performance-Second-Quarter-2021/default.aspx>.
 - Lee HK, Knabl L, Knabl L, Kapferer S, Pateter B, Walter M, Furth PA, Hennighausen L. Robust immune response to the BNT162b mRNA vaccine in an elderly population vaccinated 15 months after recovery from COVID-19. *medRxiv*. 2021. Preprint 2021.09.08.21263284. doi:10.1101/2021.09.08.21263284.
 - Keskin AU, Bolukcu S, Ciragil P, Topkaya AE. SARS-CoV-2 specific antibody responses after third CoronaVac or BNT162b2 vaccine following two-dose CoronaVac vaccine regimen. *J Med Virol*. 2022;94(1):39–41. doi:10.1002/jmv.27350.
 - Bar-On YM, Goldberg Y, Mandel M, Bodenheimer O, Freedman I, Kalkstein N, Mizrahi B, Alroy-Preis S, Ash N, Milo R, et al. Protection of BNT162b2 vaccine booster against Covid-19 in Israel. *N Engl J Med*. 2021;385(15):1393–400. doi:10.1056/NEJMoa2114255.
 - Lancet Infectious Diseases. COVID-19 vaccine equity and booster doses. *Lancet Infect Dis*. 2021;21(9):1193. doi:10.1016/S1473-3099(21)00486-2.



Makale-TURKOVAC Primer Faz 3 “Efficacy, Immunogenicity, and Safety of the Two-Dose Schedules of TURKOVAC versus CoronaVac in Healthy Subjects: A Randomized, Observer-Blinded, Non-Inferiority Phase III Trial



Article

Efficacy, Immunogenicity, and Safety of the Two-Dose Schedules of TURKOVAC versus CoronaVac in Healthy Subjects: A Randomized, Observer-Blinded, Non-Inferiority Phase III Trial

Mine Durusu Tanriover^{1,2}, Ozlem Altuntas Aydin³, Rahmet Guner⁴, Orhan Yildiz⁵, Ilhami Celik⁶, Hamdi Levent Doganay^{7,8}, Sukran Kose⁹, Sila Akhan¹⁰, Emin Halis Akalin¹¹, Zafer Sezer¹², Aykut Ozdarendeli^{13,14}, Serhat Unal^{2,15,*} and on behalf of the TURKOVAC Study Group[†]

- 1 Department of Internal Medicine, Hacettepe University Faculty of Medicine, 06230 Ankara, Türkiye
 - 2 Vaccine Institute, Hacettepe University, 06230 Ankara, Türkiye
 - 3 Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, University of Health Sciences, Başakşehir Cam and Sakura City Hospital, 34480 Istanbul, Türkiye
 - 4 Infectious Diseases and Clinical Microbiology Clinic, Ankara Yıldırım Beyazıt University, Ankara City Hospital, 06800 Ankara, Türkiye
 - 5 Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Erciyes University Faculty of Medicine, 38030 Kayseri, Türkiye
 - 6 Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Kayseri City Training and Research Hospital, 38080 Kayseri, Türkiye
 - 7 Department of Gastroenterology, Medical Park Pendik Hospital, 34899 Istanbul, Türkiye
 - 8 Department of Internal Medicine, Bahçeşehir University School of Medicine, 34734 Istanbul, Türkiye
 - 9 Infectious Diseases Clinic, University of Health Sciences, Izmir Tepecik Training and Research Hospital, 35020 Izmir, Türkiye
 - 10 Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Kocaeli University Faculty of Medicine, 41001 Kocaeli, Türkiye
 - 11 Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Bursa Uludağ University Faculty of Medicine, 16059 Bursa, Türkiye
 - 12 Department of Medical Pharmacology, Erciyes University Faculty of Medicine, 38030 Kayseri, Türkiye
 - 13 Department of Microbiology, Erciyes University Faculty of Medicine, 38030 Kayseri, Türkiye
 - 14 Vaccine Research, Development and Application Centre (ERAGEM), Erciyes University, 38280 Kayseri, Türkiye
 - 15 Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Hacettepe University Faculty of Medicine, 06230 Ankara, Türkiye
- * Correspondence: sunal@hacettepe.edu.tr; Tel: +90-532-488-37-57
† Collaborators/Membership of the Group/Team Name is provided in the Supplementary Material



Citation: Tanriover, M.D.; Aydin, O.A.; Guner, R.; Yildiz, O.; Celik, I.; Doganay, H.L.; Kose, S.; Akhan, S.; Akalin, E.H.; Sezer, Z.; et al. Efficacy, Immunogenicity, and Safety of the Two-Dose Schedules of TURKOVAC versus CoronaVac in Healthy Subjects: A Randomized, Observer-Blinded, Non-Inferiority Phase III Trial. *Vaccines* **2022**, *10*, 1865. <https://doi.org/10.3390/vaccines10111865>

Academic Editor: Angelos Hatzakis

Received: 4 October 2022

Accepted: 1 November 2022

Published: 4 November 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: We present the interim results of the efficacy, immunogenicity, and safety of the two-dose schedules of TURKOVAC versus CoronaVac. This was a randomized, observer-blinded, non-inferiority trial (NCT04942405). Volunteers were 18–55 years old and randomized at a 1:1 ratio to receive either TURKOVAC or CoronaVac at Day 0 and Day 28, both of which are 3 µg/0.5 mL of inactivated severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2) adsorbed to aluminum hydroxide. The primary efficacy outcome was the prevention of polymerase chain reaction (PCR)-confirmed symptomatic coronavirus disease 2019 (COVID-19) at least 14 days after the second dose in the modified per-protocol (mPP) group. Safety analyses were performed in the modified intention-to-treat (mITT) group. Between 22 June 2021 and 7 January 2022, 1290 participants were randomized. The mITT group consisted of 915 participants, and the mPP group consisted of 732 participants. During a median follow-up of 90 (IQR 86–90) days, the relative risk reduction with TURKOVAC compared to CoronaVac was 41.03% (95% CI 12.95–60.06) for preventing PCR-confirmed symptomatic COVID-19. The incidences of adverse events (AEs) overall were 58.8% in TURKOVAC and 49.7% in CoronaVac arms ($p = 0.006$), with no fatalities or grade four AEs. TURKOVAC was non-inferior to CoronaVac in terms of efficacy and demonstrated a good safety and tolerability profile.



Keywords: TURKOVAC; CoronaVac; efficacy; safety; COVID-19; vaccine; vaccination; vaccine immunogenicity; SARS-CoV-2 vaccines

1. Introduction

Coronavirus disease 2019 (COVID-19) is keeping its pace through the newly emerging variants of severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2) and affecting the globe in different dimensions. Additionally, the burden of disease in terms of COVID-19 and all-cause mortality is exceptionally high in underserved populations with social disparities, among people with underlying chronic conditions, and in low- and middle-income countries [1].

Vaccination is the crucial pillar in breaking the transmission chain of SARS-CoV-2 infections in combination with mask-wearing, social distancing measures, and indoor ventilation [2]. However, vaccine equity is an alarming issue given that 63.3% of the world population has received at least one dose of a COVID-19 vaccine, whereas only 13.6% of people in low-income countries have received at least one dose at the time this article has been drafted [3]. It is clear that the equitable and fair distribution of vaccines is crucial in order to end the pandemic, and the World Health Organization (WHO) has declared urgency to accelerate vaccinations in low- and middle-income countries [4]. It has been argued that COVID-19 vaccination strategies must focus on preventing severe disease, and for this purpose, at least one dose of COVID-19 vaccination coverage should be attained among adults globally [5].

As of 8 March 2022, there were 147 vaccine candidates in clinical trials, 21 (14%) of which are inactivated vaccines [6]. Inactivated vaccines have certain advantages, such as having a well-established production system and not requiring advanced transport and storage conditions other than a 2–8 °C cold chain, which make them valuable, especially for developing countries. Additionally, as they include a diversity of antigens that are more prone to be conserved than the S protein, such as the nucleocapsid, envelope, and matrix proteins, they offer additional antigenic targets, which might boost protection [7]. However, they require biosafety level-3 facilities and verification of the integrity of antigens and/or epitopes and adjuvants to enhance the immune response. Although the inactivated vaccines have a predictable and favorable long-term safety profile, decreased neutralization capacity has been demonstrated for variants of concern (VOC) [8].

The whole virion-inactivated vaccines on the WHO emergency use list are CoronaVac (Sinovac Life Sciences Co., Ltd., Beijing, China), Covaxin (Bharat Biotech International Ltd., Telangana, India), and Inactivated COVID-19 Vaccine (Vero Cell) (Beijing Institute of Biological Products Co., Ltd. [BIBP], Beijing, China) [9] and they make up nearly half of all vaccines administered throughout the world, with CoronaVac being the most widely administered [10]. The interim analysis of the phase III trial of CoronaVac in Türkiye revealed a vaccine efficacy of 83.5% (95% confidence interval [CI] 65.4–92.1; $p < 0.0001$) for symptomatic COVID-19 with no severe COVID-19 cases or deaths during the follow-up [11]. TURKOVAC (Koçak Farma Production Facilities, Tekirdağ, Türkiye) is also an inactivated whole virion vaccine developed with the SARS-CoV-2 strain hCoV-19/Türkiye/ERAGEM-001/2020 isolated from a patient in Türkiye with confirmed COVID-19 [12]. The preclinical immunogenicity, protective efficacy, and safety evaluation of TURKOVAC (formerly ERUCoV-VAC) were tested in BALB/c mice, transgenic mice (K18-hACE2), and ferrets, and no safety issues were observed, while the vaccine candidate induced humoral immune responses in old and young BALB/c mice, protected K18-hACE2 transgenic mice against a lethal SARS-CoV-2 challenge and reduced upper respiratory tract SARS-CoV-2 infection in ferrets [12]. The vaccine candidate was then introduced to phase I and II trials, where safety and immunogenicity analyses were performed with 3 µg/0.5 mL and 6 µg/0.5 mL TURKOVAC versus placebo. The phase I trial with a 21-day dosing schedule demonstrated that 84% of the vaccinated subjects exhibited neutralizing antibodies, which did not differ



between the two administered vaccine doses [13]. Anti-SARS-CoV-2 specific antibodies were found in all Day 43 sera from vaccine-treated volunteers. The phase II trial, which was run with a 28-day dosing schedule, demonstrated that total immunoglobulin (Ig)G responses against SARS-CoV-2 by Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) were significantly higher in the 6 µg group compared to the 3 µg group; however, there was no significant difference between neutralizing antibody titers and T cell response determined by the ELISPOT [13]. TURKOVAC, at a dosage of 3 µg/0.5 mL in 28-day dosing intervals, was introduced to the phase III trial with CoronaVac as the active comparator to test the non-inferiority of TURKOVAC in terms of efficacy, immunogenicity, and safety.

Here, we present the interim results of the efficacy, immunogenicity, and safety of the two-dose schedules of TURKOVAC versus CoronaVac.

2. Materials and Methods

2.1. Trial Design

This is a randomized, observer-blinded, non-inferiority phase III clinical trial to assess the efficacy, immunogenicity, and safety of the two-dose TURKOVAC versus the two-dose CoronaVac among volunteers between 18–55 years old in Türkiye (Registered at ClinicalTrials.gov, NCT04942405). Enrolled participants were randomly assigned in a ratio of 1:1 to one of the two arms to receive either 0.5 mL of the inactivated study vaccine TURKOVAC (vaccine lot numbers: 9020103, 9020104, 9020106, 9020112, 9020120) or 0.5 mL of CoronaVac (vaccine lot number: MF2106047) to be administered as two doses 28 days apart. As the trial utilized a non-inferiority design with an active comparator, we aimed to include a comparator vaccine that would have a similar mode of action to compare the efficacy and also which was an authorized vaccine already in use and trusted by the community in Türkiye in order to increase the enrollment rate. Randomization was performed by the Interactive Web-based Response System (IWRS) of the Omega Clinical Research Organization (CRO), Ankara, Türkiye.

Participants were recruited in eight centers between 22 June 2021 and 7 January 2022. Initially, three centers were activated for safety follow-up until 400 volunteers were recruited, which was attained on 4 August 2021. Automated phone calls were made daily for the first enrolled 400 subjects to screen for adverse events (AEs) and COVID-19 symptoms until 21 days after the second dose. As per protocol, 21 days after the second vaccination of the 400th subject included in the study, the Data Safety Monitoring Board had a meeting and reported the safety results obtained until 21 September 2021. The report was submitted to the Ethics Committee, and the further recruitment of subjects was pursued after the decision that no major safety concern was raised. In the second phase, enrolment continued in eight centers.

The protocol of the trial was drafted when the alpha variant was the dominant VOC, and the incidence rates of COVID-19 were relatively low. However, after the commencement of the trial, the Delta variant became the dominant variant quickly, and the incidence rates raised dramatically. The sample size was recalculated based on the current disease incidence rate, and a protocol amendment was planned; however, the primary endpoint was reached on 10 November 2021. Moreover, on 22 December 2021, the Ministry of Health (MoH) gave an Emergency Use Authorization (EUA) for TURKOVAC and started its roll-out for the community vaccination program in the last week of December 2021.

The study protocol was approved by the Clinical Research Ethics Board of Hacettepe University (No: KA-21070 and Date: 21 June 2021).

2.2. Participants

Volunteers 18–55 years of age with no COVID-19 history were screened for eligibility. Those who consented to participate agreed to comply with all study visits, procedures, contraceptive requirements, and were medically stable, and were enrolled. Exclusion criteria included: acute illness or fever within 48 h before or use of antipyretic/analgesic medication within 24 h before planned administration of vaccine; pregnancy or breastfeed-



ing; known history of SARS-CoV-2 infection; current positive (polymerase chain reaction (PCR)-based viral RNA detection) or past positive (serological testing or PCR-based viral RNA detection) diagnostic test result for SARS-CoV-2; prior administration of an investigational or approved coronavirus vaccine or current/planned simultaneous participation in another interventional study to prevent or treat COVID-19; cardiac diseases; uncontrolled hypertension; history of coronary artery disease at early ages in their first-degree relatives (presence of coronary artery disease before age 55 in men and before age 65 in women); body mass index ≥ 40 kg/m²; autoimmune disease; severe allergic reaction to any licensed or investigational vaccine or to any of the constituents of CoronaVac or TURKOVAC; bleeding disorders; immunosuppressive or immunodeficient state (including human immunodeficiency virus), asplenia, recurrent severe infections; receipt or plan of receipt of a licensed, live replicating vaccine within 28 days before or after first study vaccination or a licensed inactivated or non-replicating vaccine within 14 days before or after first study vaccination; immunosuppressive therapy within 6 months prior to screening, or planned receipt throughout the study; receipt of systemic Igs or blood products within 3 months prior to screening or plans to receive such products during the study.

2.3. Procedures

All participants had oropharyngeal and nasopharyngeal swabs for baseline PCR testing with Bio-Speedy® Direct RT-qPCR SARS-CoV-2 detection kit (Bioeksan, Türkiye) on Bio-Rad CFX96 Touch™ platform (Foster City, CA, USA) at Visit 1. Blood samples were collected from all participants in Visit 1 and preserved until the closing of the enrolment, when all of the samples were analyzed for the baseline SARS-CoV-2 IgG antibody. The SARS-CoV-2 IgG II Quant assay (Abbott Ireland Diagnostics Limited, Sligo, Ireland), a chemiluminescent microparticle immunoassay (CMIA) was used for the qualitative and quantitative determination of IgG antibodies to SARS-CoV-2 in human serum and plasma on the ARCHITECT i System. This assay utilizes a 4 Parameter Logistic Curve fit data reduction method (4PLC, Y-weighted) to generate a calibration and results. The cut-off is 50.0 AU/mL for the interpretation of results. Follow-up samples for SARS-CoV-2 anti-spike IgG were collected at least 14 days after the second dose of the vaccine. Simultaneous samples were collected for the pseudovirus neutralization test to check for neutralizing activity. For this test, the DIA.PRO ACE2-RBD neutralization assay kit (Diagnostic Bioprobes Srl, Sesto San Giovanni, Italy) was used. The sensitivity of this kit is reported to be better than 90% with reference to the gold-standard method of neutralization *in vivo*. In addition, the specificity of this assay is reported to be >98%.

Symptom-based active surveillance was performed to detect participants with symptoms suggesting COVID-19 during the follow-up (script—Supplementary Material S2). All cases of SARS-CoV-2 infection were classified according to the scale of clinical progression proposed by the WHO [14].

2.4. Outcomes and Analysis Methods

The primary objective was to evaluate the efficacy of a two-dose regimen of TURKOVAC and a two-dose regimen of CoronaVac for reverse transcription (RT)-PCR-confirmed symptomatic COVID-19 disease. The primary endpoint was the protection rates of two doses of TURKOVAC and two doses of CoronaVac against RT-PCR-confirmed symptomatic COVID-19 at least 14 days after the second vaccination dose.

For evaluating the efficacy of the study vaccines, COVID-19-free person-years were calculated for both study arms. Accordingly, the time from the anticipated date of prevention (14 days after the administration of the second dose) to either the date of data cut-off or the date of a PCR-confirmed diagnosis of COVID-19 was determined for each participant and summed to calculate the total person-years without the disease. Total person-years was divided by the number of participants diagnosed with COVID-19 to determine the vaccine efficacy in the CoronaVac and TURKOVAC groups.



The efficacy measure was defined as the disease events per person-years of COVID-19-free period, and the relative risk reduction was used to compare vaccine efficacies, which was calculated as below:

$$\text{Primary efficacy measure} = \frac{\sum \text{Cases}}{\sum \text{Time to event}}$$

Primary efficacy measure (PEM) : incidence rate of symptomatic COVID-19 cases

Cases : RT-PCR confirmed COVID-19 cases

Time to event : Time from vaccine protection to diagnosis or unveiling of masking

$$\text{Relative Risk Reduction} = 100 \times \left(1 - \frac{\text{PEM}_{\text{TURKOVAC}}}{\text{PEM}_{\text{CoronaVac}}} \right)$$

Secondary objectives were:

- To evaluate the efficacy of a two-dose regimen of TURKOVAC and a two-dose regimen of CoronaVac for the prevention of hospitalization and death among RT-PCR-confirmed severe COVID-19 cases;
- To evaluate the efficacy of the first dose of TURKOVAC and the first dose of CoronaVac against RT-PCR-confirmed symptomatic COVID-19;
- To assess the safety of TURKOVAC and CoronaVac by determining the incidence of adverse reactions and serious AEs;
- To assess the immunogenicity of a two-dose regimen of TURKOVAC and a two-dose regimen of CoronaVac.

All AEs were questioned during all visits and through automated phone calls via the Interactive Voice Response System (IVRS) (script—Supplementary Material S2). Predefined symptoms (solicited events) and other unspecified symptoms (unsolicited events) reported by the participants were recorded. All safety data, until the date of data cut-off, were recorded and analyzed in the current report.

2.5. Statistical Analysis

It was planned to include 40,800 subjects in the study in the initial protocol. Assuming the incidence of confirmed COVID-19 (RT-PCR confirmed COVID-19 cases per 1000 person × year) to be 22 per 1000 person-year in the CoronaVac arm and 20 per 1000 person-year in the TURKOVAC arm and based on the use of a two-sided test at the alpha = 0.05 level of significance, a sample size of 18,546 participants per CoronaVac arm would provide 80% power to reject the null hypothesis. The non-inferiority margin was assumed as 10%, and the value was 0.0017%. The planned sample size was 40,800 participants when a dropout rate of approximately 10% was considered (20,400 subjects for the TURKOVAC arm and 20,400 subjects for the CoronaVac arm). The interim analysis would be performed when 20 cases were confirmed, and the final analysis would be performed when 40 cases of confirmed COVID-19 were reported. This calculation was done depending on the rate of symptomatic COVID-19 cases in the CoronaVac phase III study and an extrapolation of the expected symptomatic cases among the targeted sample size in the period where this study was planned. After the recruitment of the first 400 subjects in the first phase, along with the interim safety analysis, the sample size would be calculated again. However, as the protocol amendment and approval process were ongoing, the primary endpoint was reached, and TURKOVAC was granted EUA by the MoH.

As per protocol, blood samples for SARS-CoV-2 antibody detection were collected in Visit 1, and volunteers were enrolled and vaccinated after negative PCR test results were available. SARS-CoV-2 antibody test results were available after the study was closed to the enrolment of new subjects, and after the exclusion of those volunteers found to be seropositive at baseline, the following analysis sets were established for statistical analyses. The modified intention-to-treat (mITT) analysis set included all participants who received at least one dose of the study vaccine. The mITT set also formed the safety analysis set.



The follow-up period for safety analyses was defined as the time period (days) from the randomization date to the data cut-off date, which was 23 February 2022. The modified per-protocol (mPP) analysis set included all eligible randomized participants who received two doses of TURKOVAC or two doses of CoronaVac within the predefined window in the protocol, had no evidence of current or prior SARS-CoV-2 infection at baseline or within 14 days after the second study vaccination, had no protocol deviations to affect efficacy and safety assessment. The follow-up period for efficacy analyses in the mPP set was defined as 90 days after 14 days after the second dose of the vaccine or the data cut-off date (23 February 2022), whichever came first.

All analyses were performed using IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA). Incidence of COVID-19 was calculated as the total number of episodes (lab-confirmed symptomatic COVID-19) person-years for the at-risk population * 1000. This was done according to per-protocol (PP) analysis. Demographic characteristics were summarized as descriptive. The normality of data was tested using the visual (histogram and probability plots) and analytical (Kolmogorov-Smirnov/Shapiro-Wilk tests) methods. Descriptive statistics were expressed as mean, standard deviation, and interquartile range (IQR) for numerical variables; categorical variables were expressed as numbers and percentages. The chi-square or Fisher's exact test was used to compare proportions between groups. A Log-rank test was employed for the comparison of follow-up duration between the treatment arms.

The 95% CI for vaccine efficacy with the use of a binomial distribution-based exact method was calculated. The time to diagnosis of COVID-19 from the time of anticipated vaccine protection in both groups was presented using the Kaplan-Meier survival curves. An mPP analysis was used as a means of adjusting for the expected treatment-effect-by-baseline covariate interaction that would be present in a mITT analysis. By using an mPP analysis, the zero expected vaccine efficacy subgroup was eliminated, thus approaching an unbiased estimate of prophylactic vaccine efficacy.

Safety and efficacy analyses were performed in the mITT and in the mPP groups, respectively.

3. Results

3.1. Participants

All recruitment, randomization, and follow-up procedures were completed in eight study centers (Supplementary Material S4). A total of 1296 volunteers were screened for eligibility, and 1290 were randomized between 22 June 2021 and 7 January 2022 (Figure 1).

Among randomized participants, 648 received CoronaVac, and 642 received TURKOVAC. After the exclusion of those who had positive baseline anti-SARS-CoV-2 antibodies, 459 participants in the CoronaVac arm and 456 participants in the TURKOVAC arm formed the mITT group. The mPP group included 371 participants in the CoronaVac arm and 361 participants in the TURKOVAC arm for primary efficacy analysis. On the date of data cut-off, 915 participants in the mITT group reached 132 (IQR 89–133) days of median follow-up after the first dose. The median age of the participants was 38 (IQR 33–44) years, and 665 (72.7%) were male. One hundred and forty-three participants (15.6%) reported at least one preexisting condition, with allergic conditions being the most prevalent ones. The main baseline characteristics of participants are given in Table 1.

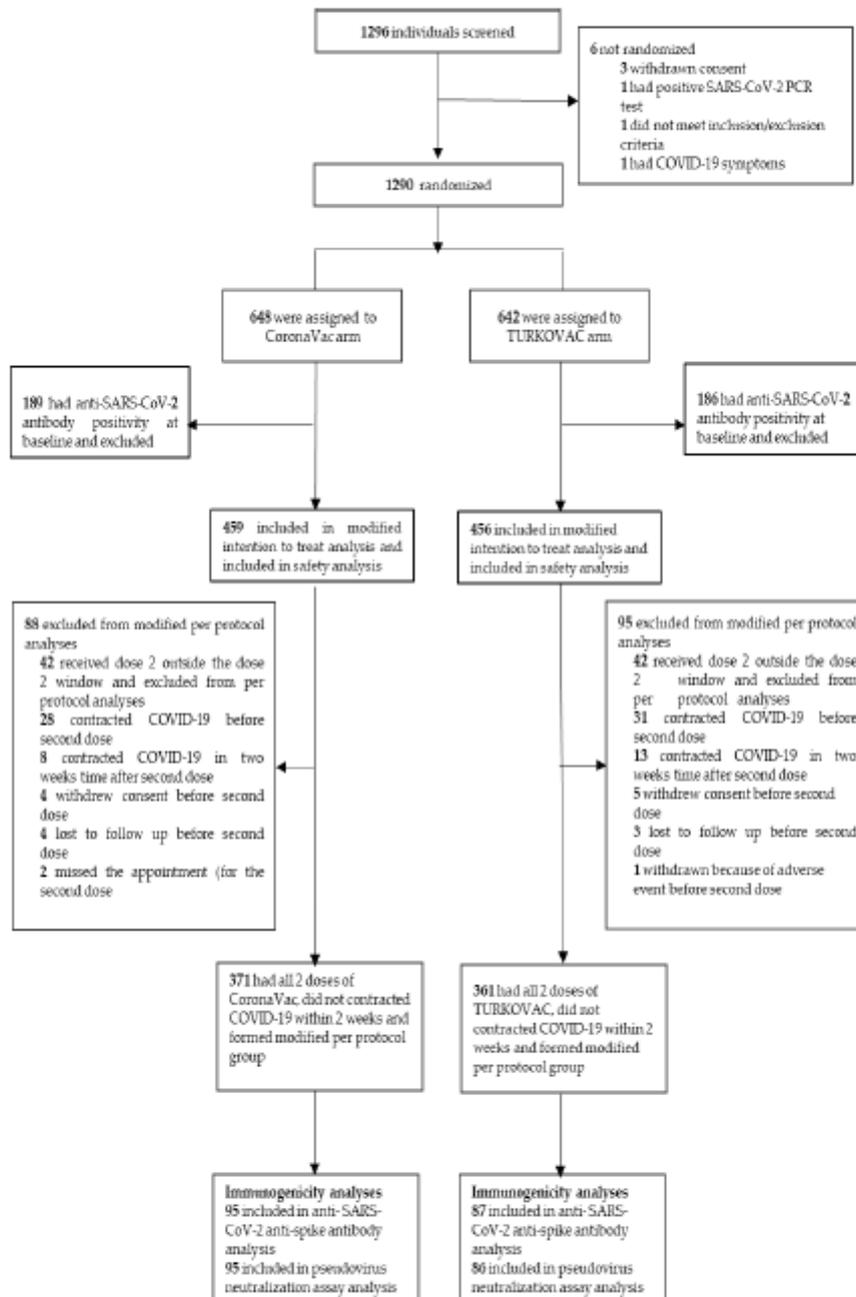


Figure 1. Study flowchart. SARS-CoV-2, severe acute respiratory syndrome coronavirus-2; PCR, polymerase chain reaction; COVID-19, Coronavirus disease 2019.



Table 1. Main characteristics of the study population.

Characteristics *	CoronaVac Arm n = 459	TURKOVAC Arm n = 456
Age, years, Median (IQR)	39 (32–44)	38 (34–44)
Age groups, n (%)		
18–29 years	78 (17)	69 (15.1)
30–39 years	170 (37)	188 (41.2)
40–55 years	211 (46)	199 (43.6)
Sex, n (%)		
Male	325 (70.8)	340 (74.6)
Female	134 (29.2)	116 (25.4)
BMI, kg/m ² , Median (IQR)	25.96 (23.53–29.04)	26.26 (23.56–28.60)
BMI, kg/m ² , n (%)		
<25	176 (38.3)	172 (37.7)
≥30	85 (18.5)	69 (15.1)
25–30	198 (43.1)	215 (47.1)
Medical History, n (%)		
Hypertension	6 (1.3)	5 (1.1)
Diabetes mellitus	2 (0.4)	4 (0.9)
Allergic conditions	5 (1.1)	12 (2.6)
Neurological and psychiatric status	6 (1.3)	6 (1.3)
Respiratory diseases	5 (1.1)	1 (0.2)
Thyroid diseases	7 (1.5)	1 (0.2)
Presence of any medical history	69 (15)	74 (16.2)
Concomitant drug use **	49 (11.8)	49 (12.0)

IQR, interquartile range; BMI, body mass index. * All participants were Caucasians for both vaccine arms. ** The analysis for concomitant drug use was conducted with over 823 participants due to missing data.

3.2. Efficacy

A total of 175 COVID-19 cases were observed among 915 participants from the randomization date to the data cut-off date, which was a median of 132 (IQR 89–133) days of follow-up with an incidence rate of 652.35 per 1000 person-years (95% CI 592.7–709.9). A total of 96 (13.11%) symptomatic COVID-19 cases were observed in the mPP group over 90 days (IQR 86–90) of follow-up (incidence rate 597.15 per 1000 person-years, 95% CI 516.2–672.8), of whom 61 (16.44%) were among CoronaVac recipients (n = 371), with an incidence rate of 762.68 per 1000 person-years (95% CI 654.2–850.5). Among TURKOVAC recipients (n = 361), 35 (9.70%) contracted COVID-19, with an incidence rate of 433.26 per 1000 person-years (95% CI 322.4–546.9). The relative risk reduction with TURKOVAC compared to CoronaVac was 41.03% (95% CI 12.95–60.06) for preventing PCR-confirmed symptomatic COVID-19 with an absolute risk reduction of 6.75% (95% CI 1.86–11.63). Cumulative incidences of COVID-19 events in the TURKOVAC and CoronaVac arms are given in Figure 2. As the study products were inactivated vaccines, a single dose was not expected to be as efficacious as two doses; hence, the primary efficacy analysis was done in the mPP group. There was only one case of hospitalization for symptomatic COVID-19 in the mPP analysis set, and that was in the CoronaVac arm. There was no severe case with regard to the WHO Clinical Progression scale in the cohort during the follow-up period (Table S5).

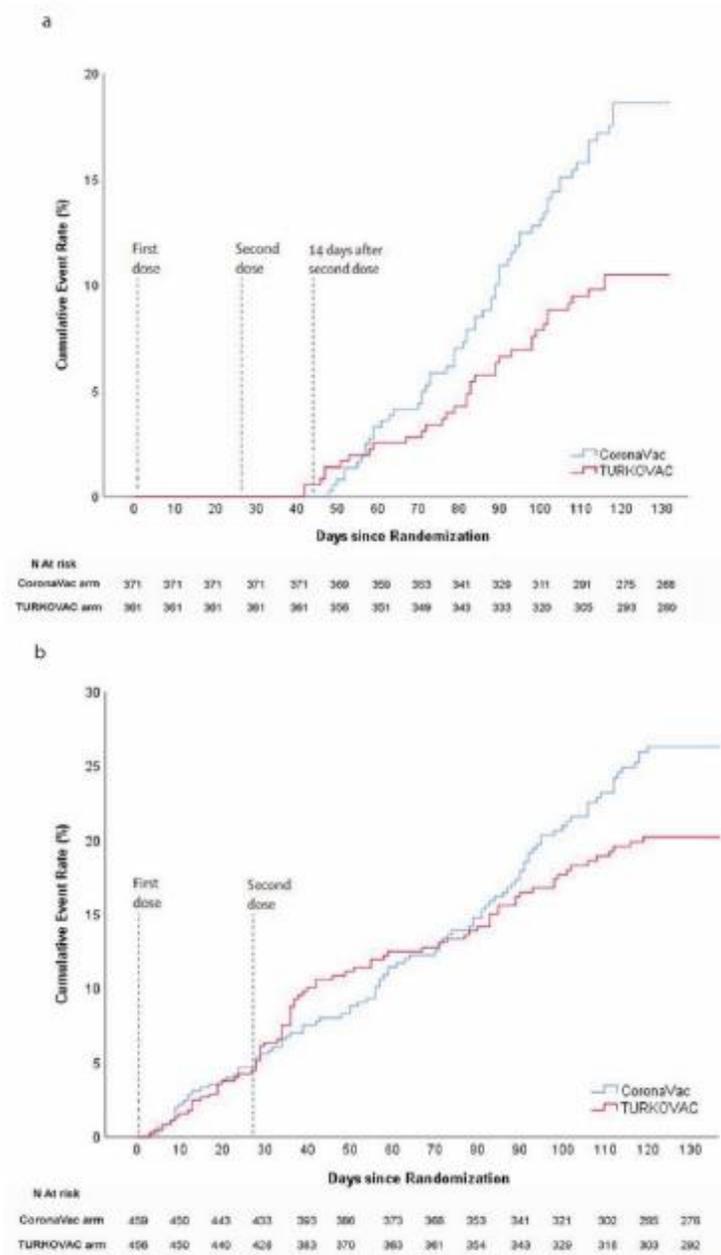


Figure 2. Cumulative incidence curves for COVID-19 cases in both study arms: (a) in the modified per-protocol analysis, vaccine efficacy was assessed by analyzing cases starting 14 days after the second dose of vaccination, and (b) in the modified intention-to-treat population, cumulative incidence curves are given starting after randomization.



3.3. Immunogenicity

Follow-up samples for immunogenicity studies were collected within a median of 33.5 (Q1–Q3: 21–55) days after the second dose of the vaccine. The seroconversion rates for anti-SARS-CoV-2 spike antibodies were 94.7% among CoronaVac (n = 95) and 94.3% among TURKOVAC (n = 87) recipients ($p = 1.000$), who could be sampled for immunogenicity studies (Figure 3a). The pseudovirus neutralization assay yielded positivity rates of 48.4% among CoronaVac (n = 95) and 51.2% among TURKOVAC (n = 86) recipients ($p = 0.713$) (Figure 3b).

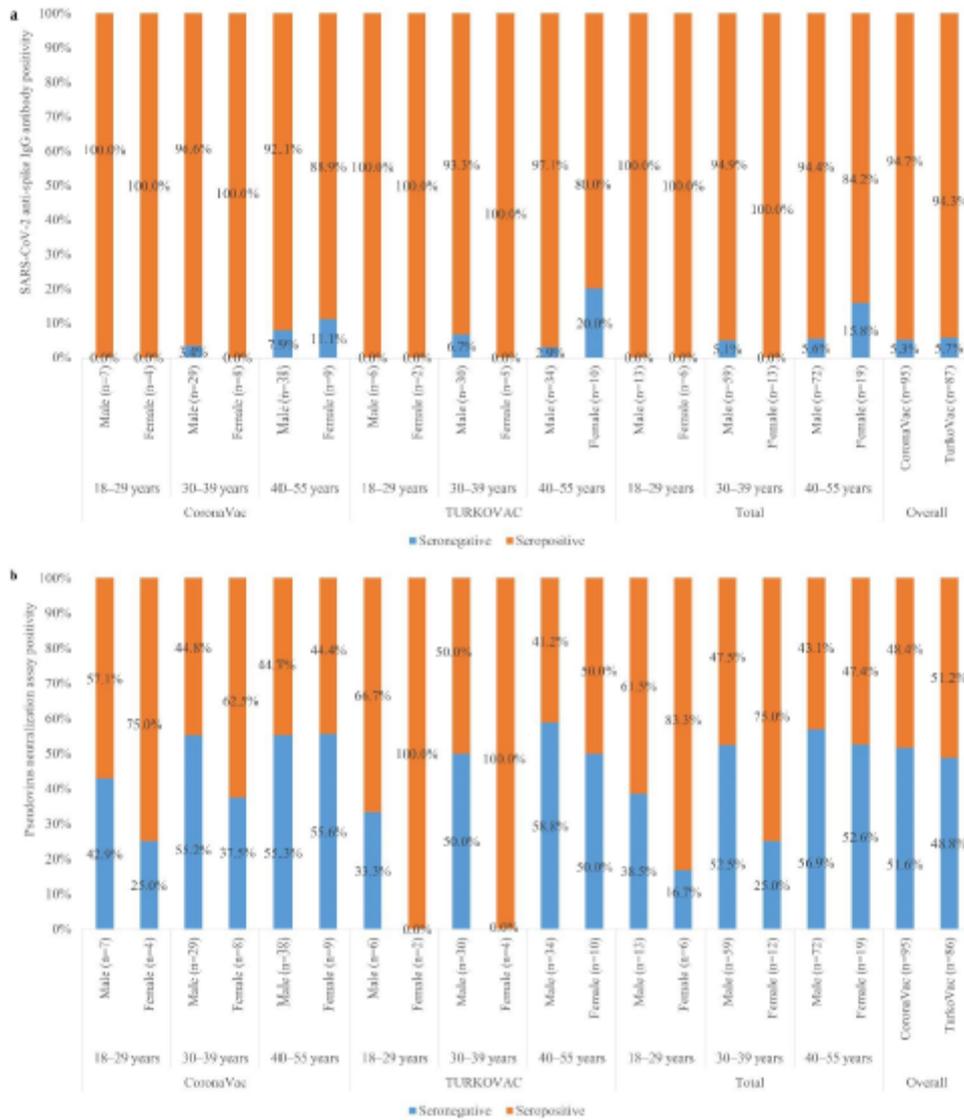


Figure 3. Seropositivity rates in the CoronaVac and TURKOVAC arms 14 days later than the second dose and its distribution according to age and sex: (a) for SARS-CoV-2 anti-spike IgG antibodies, (b) for pseudovirus neutralization assay. SARS-CoV-2, severe acute respiratory syndrome coronavirus-2; IgG, immunoglobulin G.



3.4. Safety

Analyses of AEs were performed in the mITT group ($n = 915$) (Figure 1). Both vaccines exhibited a satisfactory safety profile without any grade four AEs or fatalities during the study period. A total of 1650 AEs were reported for 496 subjects, which resolved within a median of two (IQR 1–4) days. Overall, AEs were reported by 268 (58.8%) participants in the TURKOVAC group and 228 (49.7%) participants in the CoronaVac group ($p = 0.006$) (Figure 4a). Solicited AEs were higher in the TURKOVAC arm ($n = 267$, 58.6%) compared with the CoronaVac arm ($n = 225$, 49.0%) ($p = 0.004$). Unsolicited AEs had a relatively low incidence in both arms (Figure 4a). A comprehensive breakdown of AEs is given in the Supplementary Material S6 (Table S6).

Local reactions were more commonly reported among the TURKOVAC recipients ($n = 199$, 43.6%) than the CoronaVac recipients ($n = 98$, 21.4%) ($p < 0.001$). The most common solicited local reaction was inoculation site pain which occurred significantly more frequently with TURKOVAC ($n = 192$, 42.1%) compared with CoronaVac ($n = 92$, 20%) ($p < 0.001$). Other local AEs, including swelling, paresthesia, and induration, were rare and not significantly different in both arms except for paresthesia which was higher with TURKOVAC ($n = 9$, 2.0%) compared with CoronaVac ($n = 1$, 0.2%) ($p = 0.011$) (Figure 4b).

Systemic AEs were infrequent in both arms without any significant difference between the two vaccines. The most commonly reported systemic AEs were headache and fatigue ($n = 153$, 16.7% for both) (Figure 4c).

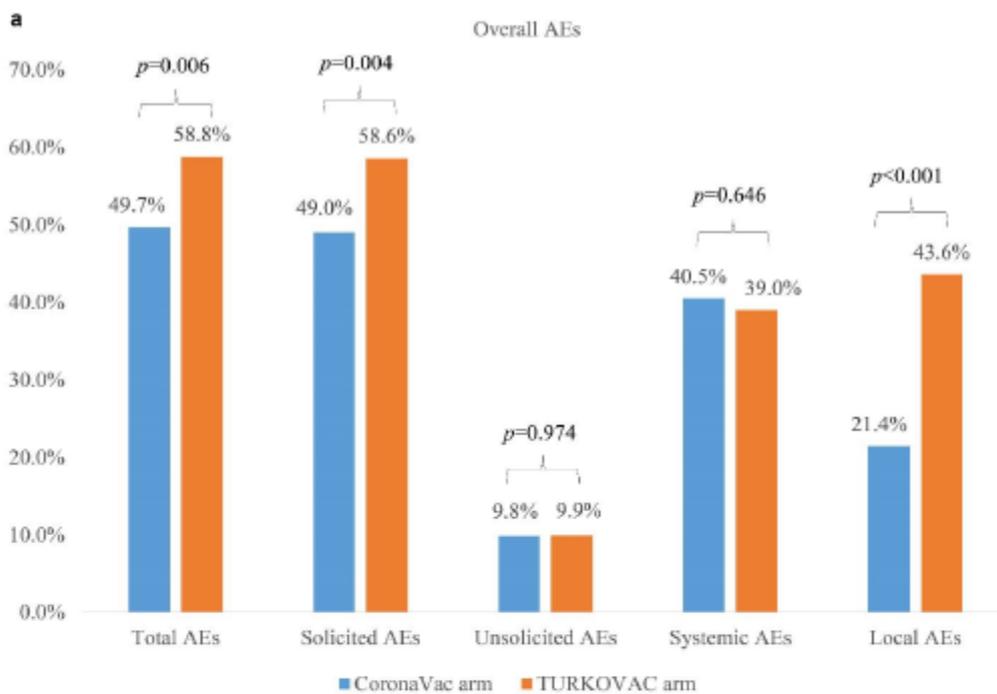


Figure 4. Cont.

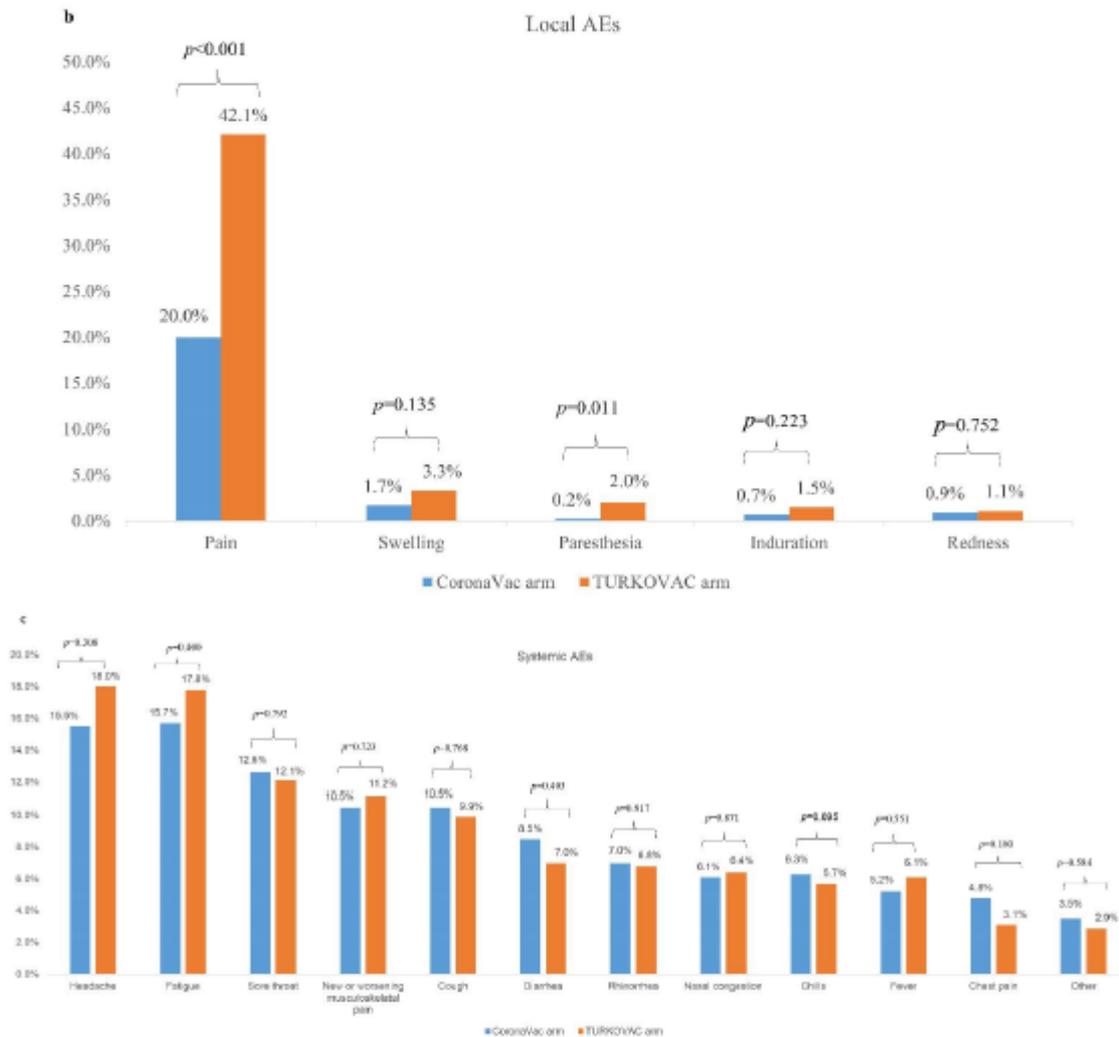


Figure 4. (a) Overall adverse events, (b) local adverse events, and (c) systemic adverse events in the CoronaVac and TURKOVAC arms. AEs, adverse events.

A total of 7 (0.8%) serious AEs were reported during the study period; 3 (0.7%) were in the TURKOVAC arm, and 4 (0.9%) were in the CoronaVac arm (Supplementary Material S6; Table S7). One participant in the CoronaVac arm and three participants in the TURKOVAC arm were hospitalized for symptomatic COVID-19; however, only one participant in the CoronaVac arm was in the period beyond 14 days after the second dose. The distribution of COVID-19 cases with regard to the WHO Clinical Progression Scale is given in the Supplementary Material S5, Table S5.

4. Discussion

This interim analysis demonstrated that TURKOVAC was safe and non-inferior to CoronaVac to prevent symptomatic COVID-19 after 14 days of the second dose with a relative risk reduction of 41.03% (95% CI 12.95–60.06) among people 18–55 years old. There



was only one patient requiring hospitalization for COVID-19 beyond 14 days after the second dose of the trial vaccine, who was in the CoronaVac arm. As this was a non-inferiority trial, we cannot comment on the individual efficacy of each vaccine [15].

There were certain reasons for the choice of another inactivated vaccine as the active comparator rather than an mRNA vaccine. First of all, the volunteers screened for this phase III trial were mainly individuals who did not get the authorized vaccines in Türkiye for many months after the COVID-19 vaccine roll-out started, and several of them might have had hesitancy to receive the mRNA vaccine. Hence, we believe that having an inactivated vaccine as a comparator definitely increased the chances of volunteer recruitment. Secondly, inactivated vaccines have shown lower efficacy against symptomatic COVID-19 compared to mRNA vaccines [16]. When a non-inferiority trial utilizes a vaccine that has an efficacy $\geq 90\%$, the power of that study is low to confirm the efficacy of a worthwhile vaccine that is safe, efficacious, and fulfills the WHO criteria for authorization, having a favorable 60–70% level of efficacy [17].

The majority of the volunteers in this study were enrolled during the period when the Delta variant was the dominant VOC in Türkiye. Fiolet and colleagues [18] recently published a comprehensive analysis of COVID-19 vaccines and demonstrated that all vaccines appear to be safe and efficacious in preventing severe COVID-19, hospitalization, and death against the VOC (before the emergence of the Omicron). The efficacy of CoronaVac in preventing symptomatic COVID-19 and COVID-19-related hospitalization after 14 days of the second dose was 83.5% and 100%, respectively [11]. Real-world studies also prove that although inactivated vaccines offer limited protection against symptomatic disease, their effectiveness against hospitalization, severe disease, and mortality is quite high after full-dose immunization, even in the face of the Delta variant [18]. A prospective national cohort study in Chile using CoronaVac reported 87.5% effectiveness in preventing hospitalization, 90.3% effectiveness in preventing intensive care unit (ICU) admission, and 86.3% effectiveness in preventing COVID-19-related death [19]. Real-world data from Malaysia with a different methodology demonstrated effectiveness estimates of 72.0% in preventing ICU admission and 82.4% in preventing deaths for full-dose CoronaVac vaccination [20]. Cerqueira-Silva et al. [21] showed that the effectiveness of CoronaVac against death was 84.8% (95%CI 77.1–89.9) in those <60 years.

The seroconversion rate after two doses of TURKOVAC was 94.4%, and 52.2% of samples yielded neutralizing activity in the pseudovirus neutralization array. Seropositivity rates of neutralizing antibodies in a Chilean population immunized with CoronaVac were reported as over 80% for the Alpha and Gamma variants, over 75% for the Delta variant, and over 60% for the Beta variants [22]. With the emergence of Omicron, even the mRNA vaccines shown to have the highest efficacy lost protection. Two Omicron variants (HKU691 and HKU344-R346K) were tested for the neutralization capacity of BNT162b2 and CoronaVac recipients. Only about 20% of BNT162b2 recipients and none of the CoronaVac recipients had detectable neutralizing antibody levels against either Omicron isolate [23].

We utilized an mPP analysis set that included a follow-up period of 90 days (beyond 14 days after the second dose of the trial vaccine). There are two main reasons for that: (1) The MoH of Türkiye issued a regulation that those who have received two doses of CoronaVac should receive a booster dose three months after the second dose, (2) immunity with inactivated vaccines wanes rapidly over time, especially beyond three months and very low neutralizing antibody concentrations were detected at six months after two doses of CoronaVac [24,25]. The waning immunity was well demonstrated by Zeng et al. [26] as the initial neutralizing antibody response from two doses of CoronaVac declined to near or below the lower limit of seropositivity after six months. However, a third dose of CoronaVac given at a longer interval (eight months) after the second dose boosted the immunity, corresponding to nearly three-fold to five-fold increases in neutralizing antibody titers compared to titers 28 days after the second dose, indicating a good immune memory. Hence, it is clear that given the immunological properties of inactivated vaccines and the data from the efficacy and effectiveness studies, a third dose of CoronaVac- and TURKOVAC- can



be integrated into the primary vaccination scheme or as a homologous vaccine boost to provide longer lasting immunity. Moreover, Bartsch et al. [27] demonstrated that vaccine-induced spike-specific antibodies continue to recognize the Omicron variant virus and recruit Fc-receptors. Induction of cellular responses against other SARS-CoV-2 proteins by CoronaVac may confer an advantage compared to other vaccines utilizing the spike protein of the Wuhan strain.

The tolerability profile of the two vaccines was very good. Overall, both vaccines had a very good safety profile, yet TURKOVAC has caused more frequent overall, solicited, and local AEs than CoronaVac. Injection site pain was the most common AE driving the difference. While CoronaVac has 0.225 mg of aluminum hydroxide per 0.5 mL dose, TURKOVAC has 0.5 mg of aluminum hydroxide per 0.5 mL dose, which might be responsible for the significantly more frequent local AEs in the TURKOVAC arm. This adjuvant dose is within the allowed limits as WHO allows up to 1.25 mg of aluminum hydroxide per dose of vaccine [28]. While the majority of the AEs were grade one, there were three patients hospitalized for COVID-19 in the TURKOVAC arm, two of which were diagnosed before 14 days had passed after the second vaccination, and one was diagnosed after the first vaccination. None of them required oxygen therapy during hospitalization, and all of them were discharged in good health.

Designing phase III trials, utilizing a placebo arm, is not possible for ethical reasons; pursuing a non-inferiority trial brought into its own challenges when some of the screened volunteers did not want to accept the active comparator vaccine, CoronaVac. Recruiting volunteers to studies where there is a high coverage for community vaccination and planning for sample size and dosing schedule, given the ever-changing milieu of the pandemic with the newly emerging VOC, are real challenges. We did not have the chance to amend the protocol to plan for a new sample size with regard to the rapidly increasing COVID-19 incidence rate in the community. Additionally, during the course of the present study, the Delta variant was the most frequent VOC in Türkiye, while the phase III trial of CoronaVac was run before the emergence of the Delta variant.

Nevertheless, this interim analysis evaluated a rather long period of follow-up data, which was a median of 132 days from randomization when compared to 43 days in the phase III trial of CoronaVac [11]. However, the study has several limitations. First of all, the study was closed to recruitment far before reaching the targeted sample size as the primary outcome was attained, TURKOVAC was granted EUA, and the vaccine was integrated as an option for community vaccine roll-out. Moreover, there was a significant proportion of volunteers who turned out to be seropositive for SARS-CoV-2 antibody and dropped out from the mPP analysis set. Secondly, the study population consisted of relatively young, healthy, and socially active individuals with a low prevalence of chronic diseases but a high risk of contracting COVID-19. Hence, the generalizability of the findings to the whole population is not possible. There were very few hospitalized COVID-19 cases, limiting our ability to make generalized conclusions about severe disease. Although this was a non-inferiority study, the comparison of the results of this trial with those of the phase III trial of CoronaVac is not possible as that trial utilized a 0–14 day dosing schedule at a time when the VOC was not widely circulating. The study did not have an objective to evaluate the efficacy of a two-dose regimen of TURKOVAC and two-dose regimen of CoronaVac for the prevention of symptomatic COVID-19, or for the hospitalization and death among RT-PCR-confirmed severe COVID-19 cases with regards to different VOC. Further analyses are required to evaluate the relevance of TURKOVAC on emerging VOC. We can only report preliminary immunogenicity data as the analyses of the sequential serum-neutralizing antibody titers, and T-cell responses are still ongoing.

5. Conclusions

Our results demonstrated that TURKOVAC is at least as efficacious as CoronaVac and has a very good safety profile in a population between 18–55 years of age. As this is an interim analysis that included a low number of volunteers, further data are still needed



on the performance of TURKOVAC to demonstrate the efficacy of the vaccine against different VOC and the duration of protection as well as to assess the safety and efficacy in the elderly population, adolescents, younger children, and individuals with certain chronic diseases. Given that inactivated vaccines can be shipped and shelved for over three years at regular fridge temperatures of 2–8 °C, they are granted a clear superiority to be used in low- and middle-income countries. Hence, TURKOVAC is as safe and efficacious a vaccine as CoronaVac and holds promise to increase the availability of COVID-19 vaccines, especially in resource-scarce settings across the world, to prioritize the health benefits both for the individual and the public.

6. Patents

Aykut Özdemir is the named inventor on patent applications covering inactivated COVID-19 vaccine development.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/vaccines10111865/s1>, Supplementary Material S1: Procedures on the screening/Day 1 and Day 28 visits, unscheduled visits and the composition and pharmacological properties of the investigational product; Supplementary Material S2: COVID-19 Surveillance; Supplementary Material S3: Safety monitoring; Supplementary Material S4: List of participating sites; Supplementary Material S5: Distribution of COVID-19 cases with regard to the WHO Clinical Progression Scale, Table S5: COVID-19 severity and symptoms of the cases in the efficacy analysis with regard to WHO Clinical Progression Scale; Supplementary Material S6: Adverse events, Table S6: Distribution of adverse events; Supplementary Material S7: The TURKOVAC Study Group, Table S7: Distribution of serious adverse events.

Author Contributions: Conceptualization, Z.S., A.O. and S.U.; Methodology, A.O., Z.S. and S.U.; Validation, M.D.T. and H.L.D.; Formal Analysis, M.D.T., H.L.D. and S.U.; Investigation, M.D.T., O.A.A., R.G., O.Y., L.C., H.L.D., S.K., S.A., E.H.A., S.U. and the TURKOVAC Study Group; Data Curation, M.D.T., H.L.D. and S.U.; Writing—Original Draft Preparation, M.D.T., H.L.D. and S.U.; Writing—Review & Editing, All in-line authors and the TURKOVAC Study Group; Project Administration, M.D.T. and S.U. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded, and the investigational products for the study were provided by THE HEALTH INSTITUTES OF TÜRKİYE (TUSEB) with the funding number TSB-11568-VAC-COV-TUR-F3.01.

Institutional Review Board Statement: The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki, and the study protocol was approved by the CLINICAL RESEARCH ETHICS BOARD OF HACETTEPE UNIVERSITY (No: KA-21070 and Date: 21 June 2021).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: Proposals should be submitted to the sponsor, Health Institutes of Türkiye, who holds all the financial and intellectual rights of the study and the study vaccine TURKOVAC.

Acknowledgments: We are grateful to all the participants who have volunteered to be a part of this study and to all of the members of the clinical research teams of the participating sites. Omega Contract Research Organization-CRO (Ankara, Türkiye) acted as the CRO representing the Health Institutes of Türkiye and contributed to correspondences between investigators, the Ethics Committee, and the MoH, monitoring, site management, storage, and distribution of the investigational products and consumables, developing electronic case report forms, IWRS, and IVRS, data management, statistical analyses, and overall project management. We thank the Health Institutes of Türkiye for funding the study and also the members of the DSMB for their contributions to the execution of this study safely. A complete list of members of the TURKOVAC-Study Group and the list of participating sites are provided in the Supplementary Material.

Conflicts of Interest: Aykut Özdemir is the named inventor on patent applications covering inactivated COVID-19 vaccine development. All remaining authors declare no competing interests.



References

1. Jindal, H.A.; Sahoo, S.S.; Jamir, L.; Kedar, A.; Sharma, S.; Bhatt, B. Higher coronavirus disease-19 mortality linked to comorbidities: A comparison between low-middle income and high-income countries. *J. Educ. Health Promot.* **2021**, *10*, 377. [CrossRef]
2. Brüssow, H.; Zuber, S. Can a combination of vaccination and face mask wearing contain the COVID-19 pandemic? *Microb. Biotechnol.* **2021**, *15*, 721–737. [CrossRef]
3. Ritchie, H.; Mathieu, E.; Rod s-Guirao, L.; Appel, C.; Charlie Giattino, C.; Ortiz-Ospina, E.; Hasell, J.; Macdonald, B.; Dattani, S.; Roser, M. Coronavirus Pandemic (COVID-19). Available online: <https://ourworldindata.org/coronavirus> (accessed on 8 March 2022).
4. World Health Organization. From Vaccines to Vaccinations: Seventh Meeting of the Multilateral Leaders Task Force on COVID-19 Vaccines, Therapeutics and Diagnostics. Available online: <https://www.who.int/news/item/22-12-2021-from-vaccines-to-vaccinations-seventh-meeting-of-the-multilateral-leaders-task-force-on-covid-19-vaccines-therapeutics-and-diagnostics> (accessed on 8 March 2022).
5. McIntyre, P.B.; Aggarwal, R.; Jani, I.; Jawad, J.; Kochhar, S.; MacDonald, N.; Madhi, S.A.; Mohsni, E.; Mulholland, K.; Neuzil, K.M.; et al. COVID-19 vaccine strategies must focus on severe disease and global equity. *Lancet* **2022**, *399*, 406–410. [CrossRef]
6. World Health Organization. COVID-19 Vaccine Tracker and Landscape. Available online: <https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines> (accessed on 8 March 2022).
7. Li, Y.D.; Chi, W.Y.; Su, J.H.; Ferrall, L.; Hung, C.F.; Wu, T.C. Coronavirus vaccine development: From SARS and MERS to COVID-19. *J. Biomed. Sci.* **2020**, *27*, 104. [CrossRef]
8. Pérez-Then, E.; Lucas, C.; Monteiro, V.S.; Miric, M.; Brache, V.; Cochon, L.; Vogels, C.B.F.; Malik, A.A.; De la Cruz, E.; Jorge, A.; et al. Neutralizing antibodies against the SARS-CoV-2 Delta and Omicron variants following heterologous CoronaVac plus BNT162b2 booster vaccination. *Nat. Med.* **2022**, *28*, 481–485. [CrossRef]
9. World Health Organization. COVID-19 Vaccines WHO EUL Issued. Available online: <https://extranet.who.int/pqweb/vaccines/vaccinescovid-19-vaccine-eul-issued> (accessed on 7 March 2022).
10. Mallapaty, S. China's COVID vaccines have been crucial—Now immunity is waning. *Nature* **2021**, *598*, 398–399. [CrossRef]
11. Tanrıoer, M.D.; Doğanay, H.L.; Akova, M.; Güner, H.R.; Azap, A.; Akhan, S.; K se, S.; Erdin , E.Ş.; Akalın, E.H.; Tabak,  .E.; et al. Efficacy and safety of an inactivated whole-virion SARS-CoV-2 vaccine (CoronaVac): Interim results of a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial in Türkiye. *Lancet* **2021**, *398*, 213–222, Erratum in: *Lancet* **2022**, *399*, 436. [CrossRef]
12. Pavel, S.; Yetiskin, H.; Uygut, M.A.; Aslan, A.F.; Aydın, G.; Inan,  .; Kaplan, B.; Ozdarendeli, A. Development of an inactivated vaccine against SARS-CoV-2. *Vaccines* **2021**, *9*, 1266. [CrossRef]
13. Ozdarendeli, A.; Sezer, Z.; Pavel, S.T.L.; Inal, A.; Yetiskin, H.; Kaplan, B.; Uygut, M.A.; Bayram, A.; Mazicioğlu, M.; Kalin Unuvar, G.; et al. Safety and immunogenicity of an inactivated whole virion SARS-CoV-2 vaccine, TURKOVAC, in healthy adults: Interim results from randomised, double-blind, placebo-controlled phase 1 and 2 trials. *Vaccine* **2022**, *accepted*.
14. WHO Working Group on the Clinical Characterisation and Management of COVID-19 Infection. A minimal common outcome measure set for COVID-19 clinical research. *Lancet Infect. Dis.* **2020**, *20*, e192–e197. [CrossRef]
15. World Health Organization. COVID-19 Vaccine Trial Designs in the Context of Authorized COVID-19 Vaccines and Expanding Global Access: Ethical Considerations. Available online: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-Policy-brief-Vaccine-trial-design-2021.1> (accessed on 8 March 2022).
16. Huang, Z.; Su, Y.; Zhang, T.; Xia, N. A review of the safety and efficacy of current COVID-19 vaccines. *Front. Med.* **2022**, *16*, 39–55. [CrossRef] [PubMed]
17. Fleming, T.R.; Krause, P.R.; Nason, M.; Longini, I.M.; Henao-Restrepo, A.M. COVID-19 vaccine trials: The use of active controls and non-inferiority studies. *Clin. Trials* **2021**, *18*, 335–342. [CrossRef] [PubMed]
18. Fiolet, T.; Kherabi, Y.; MacDonald, C.J.; Ghosh, J.; Peiffer-Smadja, N. Comparing COVID-19 vaccines for their characteristics, efficacy and effectiveness against SARS-CoV-2 and variants of concern: A narrative review. *Clin. Microbiol. Infect.* **2022**, *28*, 202–221. [CrossRef]
19. Jara, A.; Undurraga, E.A.; González, C.; Paredes, F.; Fontecilla, T.; Jara, G.; Pizarro, A.; Acevedo, J.; Leo, K.; Leon, F.; et al. Effectiveness of an inactivated SARS-CoV-2 vaccine in Chile. *N. Engl. J. Med.* **2021**, *385*, 875–884. [CrossRef] [PubMed]
20. Suah, J.L.; Tok, P.; Ong, S.M.; Husin, M.; Tng, B.H.; Sivasampu, S.; Thevananthan, T.; Appannan, M.R.; Muhamad Zin, F.; Mohd Zin, S.; et al. PICK-ing Malaysia's epidemic apart: Effectiveness of a diverse COVID-19 vaccine portfolio. *Vaccines* **2021**, *9*, 1381. [CrossRef] [PubMed]
21. Cerqueira-Silva, T.; Oliveira, V.A.; Boaventura, V.S.; Pescarini, J.M.; J nior, J.B.; Machado, T.M.; Flores-Ortiz, R.; Penna, G.O.; Ichihara, M.Y.; de Barros, J.V.; et al. Influence of age on the effectiveness and duration of protection of Vaxzevria and CoronaVac vaccines: A population-based study. *Lancet Reg. Health Am.* **2022**, *6*, 100154. [CrossRef] [PubMed]
22. Melo-González, E.; Soto, J.A.; González, L.A.; Fernández, J.; Duarte, L.F.; Schultz, B.M.; G lvez, N.M.S.; Pacheco, G.A.; Rios, M.; Vázquez, Y.; et al. Recognition of variants of concern by antibodies and T cells induced by a SARS-CoV-2 inactivated vaccine. *Front. Immunol.* **2021**, *12*, 747830. [CrossRef] [PubMed]
23. Lu, L.; Mok, B.W.; Chen, L.L.; Chan, J.M.; Tsang, O.T.; Lam, B.H.; Chuang, V.W.; Chu, A.W.; Chan, W.M.; Ip, J.D.; et al. Neutralization of SARS-CoV-2 Omicron variant by sera from BNT162b2 or Coronavac vaccine recipients. *Clin. Infect. Dis.* **2022**, *75*, e822–e826. [CrossRef]
24. Ju, B.; Zhou, B.; Song, S.; Fan, Q.; Ge, X.; Wang, H.; Cheng, L.; Guo, H.; Shu, D.; Liu, L.; et al. Potent antibody immunity to SARS-CoV-2 variants elicited by a third dose of inactivated vaccine. *Clin. Transl. Med.* **2022**, *12*, e732. [CrossRef]



25. Costa Clemens, S.A.; Weckx, L.; Clemens, R.; Almeida Mendes, A.V.; Ramos Souza, A.; Silveira, M.B.V.; da Guarda, S.N.F.; de Nobrega, M.M.; de Moraes Pinto, M.L.; Gonzalez, I.G.S.; et al. Heterologous versus homologous COVID-19 booster vaccination in previous recipients of two doses of CoronaVac COVID-19 vaccine in Brazil (RHH-001): A phase 4, non-inferiority, single blind, randomised study. *Lancet* **2022**, *399*, 521–529. [CrossRef]
26. Zeng, G.; Wu, Q.; Pan, H.; Li, M.; Yang, J.; Wang, L.; Wu, Z.; Jiang, D.; Deng, X.; Chu, K.; et al. Immunogenicity and safety of a third dose of CoronaVac, and immune persistence of a two-dose schedule, in healthy adults: Interim results from two single-centre, double-blind, randomised, placebo-controlled phase 2 clinical trials. *Lancet Infect. Dis.* **2022**, *22*, 483–495. [CrossRef]
27. Bartsch, Y.; Tong, X.; Kang, J.; José Avendaño, M.; Serrano, E.F.; García-Salum, T.; Pardo-Roa, C.; Riquelme, A.; Medina, R.A.; Alter, G. Preserved Omicron Spike specific antibody binding and Fc-recognition across COVID-19 vaccine platforms. *Medrxiv* **2021**, Preprint. Available online: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2021.12.24.21268378v1>(accessed on 8 March 2022). [CrossRef]
28. World Health Organization. WHO Technical Report Series No. 980. 2014. Available online: https://www.who.int/biologicals/WHO_TRS_980_WEB.pdf2014 (accessed on 8 March 2022).



X: EK.6

ECCMID Poster “Assessment of participant-reported adverse events following the two doses of inactivated SARS-CoV-2 vaccine through a telephone survey in Türkiye”



Assessment of participant-reported adverse events following the two doses of inactivated SARS-CoV-2 vaccine through a telephone survey in Türkiye

A. Coskun 1, F. Temel 2, P. Öznelci 3, S. Topal 2, I. Ates 4, R. Cakir Koc 5, E. Akdogan 6, A. Kara 3.
 1 Health Institutes of Türkiye, Türkiye Vaccine Institute - Ankara (Türkiye),
 2 MD, Ministry of Health, Türkiye, General Directorate of Public Health, Department of Communicable Diseases and Early Warning, Field Epidemiology Unit - Ankara (Türkiye),
 3 MD, Health Institutes of Türkiye, Türkiye Vaccine Institute - Ankara (Türkiye),
 4 MD, Ankara City Hospital, Internal Medicine Clinic -Ankara (Türkiye),
 5 Health Institutes of Türkiye, Türkiye, Biotechnology Institute - Istanbul (Türkiye),
 6 Health Institutes of Türkiye - Istanbul (Türkiye)

Background
 TURKOVAC™ is a whole-virion inactivated SARS-CoV-2 vaccine with conditional marketing authorization in Türkiye. The objective of this study is to assess the spectrum and the distribution of adverse events after the administration of the first 150,000 doses as a primary and booster dose in 17 provinces in Turkey.

Methods
 In this cohort study, between 10 January-18 February 2022, a sample group of 20,000 people were conducted a verbal questionnaire on the 3rd and the 7th day of the first (10-17 January) and the second dose (7-18 February) vaccination through a telephone call by using a structured questionnaire algorithm. The algorithm is composed of two parts to examine both local and systemic reactions. For the first dose, on the third day 6023 and on the seventh day 5345 people having received the first dose of TURKOVAC vaccine agreed to participate to the telephone survey. For the second dose, 6501 people participated to the survey on both days.

Results
 Baseline characteristics of the participants is presented in Table 1. 36.6% of the participants on the 3rd day and 22.5% of the participants on the 7th day reported any adverse event following the first dose of vaccine. For the second dose on the 3rd and 7th day any adverse event rates were quite similar (35.7% and 21.9 respectively). For both doses and on both follow-up days most reported adverse events are presented in Table 2.

Conclusions
 In this study we conducted a rapid assessment of adverse events following two doses of TURKOVAC vaccine. The vaccine seems to have a good safety profile in the first 7 days following each dose. Younger age, vaccine dose and female sex are associated with any adverse event and pain (on the injection site). Female sex is associated with more pain (on the injection site), swelling (on the injection site), induration (on the injection site), self-reported fever and influence on daily living.

Acknowledgements:
 The authors would like to thank all participants voluntarily participated to the survey and MoH SABİM Call Centre personnel for their endeavours.

Keywords: COVID-19, vaccinology, adverse event

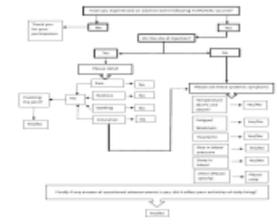


Figure 1. Questionnaire algorithm used by call center in the telephone survey following the first dose TURKOVAC vaccine, Turkey, 10-17 January 2022. The other part that stated in the algorithm is open-ended. During the survey call, other adverse events reported by the participants were noted as open-ended text.

Table 1. Baseline characteristics of the participants by follow-up day.

	1 st Dose		2 nd Dose	
	Day 3 (n=6023)	Day 7 (n=5345)	Day 3 (n=6501)	Day 7 (n=6581)
Sex				
Male	3585 (59.5)	3233 (60.5)	4172 (64.2)	4172 (64.2)
Female	2438 (40.5)	2112 (39.5)	2329 (35.8)	2329 (35.8)
Age Group				
10-39	1513 (25.1)	1310 (24.5)	1730 (26.6)	1730 (26.6)
40-55	2128 (35.3)	1999 (37.4)	2272 (34.9)	2272 (34.9)
56-64	1371 (22.8)	1243 (23.3)	1433 (22.0)	1433 (22.0)
65-75	878 (14.6)	768 (14.4)	936 (14.4)	936 (14.4)
>76	133 (2.2)	113 (2.1)	130 (2.0)	130 (2.0)
Mean±SD	50±14.8	50±14.2	49.4±14.5	49.4±14.5
Med (Min-Max)	51 (18-91)	51 (18-90)	50 (15-90)	50 (15-90)
Vaccine dose*				
1	728 (12.1)	632 (11.8)	-	-
2	-	-	170 (2.6)	170 (2.6)
3	3444 (57.2)	3064 (57.3)	4074 (62.7)	4074 (62.7)
4	1700 (28.2)	1516 (28.4)	2013 (31.0)	2013 (31.0)
5	151 (2.5)	133 (2.5)	244 (3.8)	244 (3.8)

*The term "vaccine dose" is used to define the number of doses of total COVID-19 vaccine including TURKOVAC vaccine as the latest dose.

Table 3. Rates of adverse events reported by the participants by follow-up day.

Adverse event	Day 3		Day 7	
	1 st Dose (n=6023)	2 nd Dose (n=6501)	1 st Dose (n=6501)	2 nd Dose (n=6581)
Any adverse event	2207 (36.6)	2323 (35.7)	1201 (22.5)	1422 (21.9)
Local				
On the injection site	1789 (29.7)	1888 (29.0)	696 (13.1)	885 (13.6)
- Pain	1680 (93.9)	1862 (98.0)	662 (94.8)	870 (98.3)
- Induration	296 (16.2)	219 (11.6)	145 (20.8)	140 (15.8)
- Swelling	213 (11.9)	177 (9.4)	105 (15.0)	118 (13.3)
- Redness	49 (2.7)	43 (2.3)	42 (6.0)	37 (4.2)
Involvement of joint	351 (5.8)	266 (4.1)	200 (30.2)	194 (22.3)
- Pain	61 (21.0)	31 (14.2)	58 (40.0)	37 (26.4)
- Induration	36 (16.9)	23 (13.0)	34 (32.4)	25 (21.2)
- Swelling	7 (4.3)	4 (9.3)	14 (33.3)	8 (33.5)
- Redness	-	-	-	-
Systemic				
Headache	479 (7.9)	469 (7.2)	426 (8.0)	461 (7.1)
Fatigue/Weakness	577 (9.6)	577 (8.9)	441 (8.3)	545 (8.4)
Other	235 (4.7)	135 (2.1)	121 (2.3)	210 (3.2)
Self-reported fever (>38°C)	67 (1.1)	93 (1.4)	76 (1.4)	112 (1.7)
Rise in blood pressure	63 (1.0)	51 (0.8)	74 (1.4)	72 (1.1)
Drop in blood pressure	45 (0.7)	39 (0.6)	57 (1.1)	56 (0.9)
Influence on daily living	247 (4.1)	232 (3.6)	233 (4.4)	249 (3.8)

33rd ECCMID EUROPEAN CONGRESS OF CLINICAL MICROBIOLOGY AND INFECTIOUS DISEASES
Copenhagen, Denmark
 15–18 April 2023



Article

Self-Reported Allergic Adverse Events Following Inactivated SARS-CoV-2 Vaccine (TURKOVAC™) among General and High-Risk Population

Ateş Kara ^{1,*}, Aslihan Coskun ², Fehminaz Temel ³, Pervin Özelci ², Selmur Topal ³ and Ihsan Ates ⁴

- ¹ Department of Pediatrics, Pediatric Infectious Disease Unit, Hacettepe University Faculty of Medicine, Health Institutes of Türkiye, Türkiye Vaccine Institute, Ankara 06100, Türkiye
² Health Institutes of Türkiye, Türkiye Vaccine Institute, Ankara 06260, Türkiye
³ Türkiye Ministry of Health, General Directorate of Public Health, Department of Communicable Diseases and Early Warning, Field Epidemiology Unit, Ankara 06430, Türkiye
⁴ University of Health Science, Ankara City Hospital, Department of Internal Medicine, Ankara 06610, Türkiye
* Correspondence: ateskara@hacettepe.edu.tr

Abstract: TURKOVAC™ is a whole-virion inactivated COVID-19 vaccine which was developed and granted emergency use and conditional marketing authorization in December 2021 in Türkiye. The objective of this study is to assess the distribution and the severity of allergic adverse events following the administration of the vaccine as the primary or the booster dose in 15 provinces in Türkiye. In this cohort study, between February and May 2022, in the selected 15 provinces having an adequate number of health care personnel in the community health centers to conduct the study, 32,300 people having the first, the second, or the booster dose of the vaccine were invited to the survey. A total of 29,584 people voluntarily agreed to participate to the survey and were given a structured questionnaire after a minimum of 10 days following the vaccination. In our study, only 0.5% of the participants (142 persons) reported to experience any allergic reaction, and 12 of them (8.5%) reported to be given medical treatment in a health center. Male predominance (55.6%) was observed among participants reported to experience any allergic reaction. No hospitalization was recorded. Of the participants, 4.4% (1315 people) reported to have a history of allergy. The most reported allergens were drugs. Among the participants without a known history of allergy ($n = 28,269$), 0.4% of them (110 people) reported to experience an allergic reaction following the vaccination, and 5.4% of the allergic reactions (six people) were reported to be treated in a health center. The percentage of the participants given any medical treatment among the participants without a known history of allergy is 0.02%. No immediate or anaphylactic reaction was reported. Among the participants with a known history of allergy ($n = 1315$), 32 people (2.4% of them) reported to experience an allergic reaction following the vaccination, and 18.7% of the allergic reactions (six people) were reported to be prescribed a medical treatment. The percentage of the participants given any medical treatment among the participants with a known history of allergy is 0.4%. A known history of allergy increased the risk of having an allergic experience by approximately six times following vaccination. As a whole-virion inactivated SARS-CoV-2 vaccine, the TURKOVAC™ vaccine, with a low allergic reaction-related adverse event profile, can be an alternative to other COVID-19 vaccines.

Keywords: COVID-19; vaccine; allergy; adverse events



Citation: Kara, A.; Coskun, A.; Temel, E.; Özelci, P.; Topal, S.; Ates, I. Self-Reported Allergic Adverse Events Following Inactivated SARS-CoV-2 Vaccine (TURKOVAC™) among General and High-Risk Population. *Vaccines* 2023, 11, 437. <https://doi.org/10.3390/vaccines11020437>

Academic Editor: Seth PinCUS

Received: 17 December 2022

Revised: 1 February 2023

Accepted: 7 February 2023

Published: 14 February 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) was first detected in Wuhan, China, in late December 2019. The outbreak was constituted as a Public Health Emergency of International Concern (PHEIC) on 30 January 2021 and was declared as a pandemic by the World Health Organization (WHO) on 11 March 2021 [1].



One of the most essential strategies to control a pandemic is the rapid development of safe and effective vaccines. The isolation of the virus in 2019 accelerated the development of various vaccines by 2020 [2].

The rapid development of COVID-19 vaccines for Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) is a milestone that changed the course of the pandemic, saving tens of millions of lives globally [3]. As of 23 January 2023, a total of 13,156,047,747 COVID-19 vaccine doses have been administered worldwide [4].

There are a number of COVID-19 vaccines currently used with proven safety and efficacy. Vaccines are potentially associated with adverse events. Adverse events can present as local or systemic [5]. Though the most frequently reported adverse events following SARS-CoV-2 vaccines are local and systemic adverse events [6], the reporting of allergic reactions, in particular at the beginning of SARS-CoV-2 vaccination with mRNA vaccines, the anaphylaxis and non-anaphylaxis allergic reactions based on spontaneous reports to VAERS, and increased public and health care provider awareness have become so significant for community acceptance of COVID-19 vaccines [7,8].

During the pandemic, both inactivated (CoronaVac) and mRNA (BNT162B2 mRNA vaccines) have been used in primary vaccination in Turkey. The inactivated CoronaVac and BNT162B2 mRNA vaccination programs were launched on 13 January 2021 and 2 April 2021, respectively. For individuals who have completed their primary vaccination with inactivated vaccines, the implementation of a booster dose is recommended at the sixth month, as of July 2021.

Turkey started its own COVID-19 vaccine development program in 2020. TURKOVAC™ is a whole-virion inactivated COVID-19 vaccine which was developed and granted emergency use and conditional marketing authorization in December 2021 in Türkiye. Inactivated SARS-CoV-2 virus (hCoV-19/Turkey/ERAGEM-001/2020 strain) vaccine antigen is produced in VERO CCL-81. The vaccine contains aluminum hydroxide (0.5 mg per dose) as adjuvant, phosphate-buffered saline, and water and was manufactured by SBT Science and Biotechnologies. It is available as multi-dose vials, five-dose ready for i.m. injection; the dosage is 3 µg/0.5 mL per injection. In phase I-II trials, two-dose regimens of the vaccine had an acceptable safety and tolerability profile and elicited comparable neutralizing antibody responses and seroconversion rates exceeding 95% [9]. The relative risk reduction with TURKOVAC™ compared to another inactivated SARS-CoV-2 vaccine (CoronaVac) in phase III clinical trial was 41.03% (95% CI 12.95–60.06) for preventing PCR-confirmed symptomatic COVID-19 [10]. The phase IV trial is currently ongoing.

In this article, we present a preliminary analysis of allergy data of our study, in which a large number of (29,584) participants reported adverse events following the use of TURKOVAC™ vaccine as the first, the second, or the booster dose through a telephone survey using a structured questionnaire conducted in 15 provinces in Türkiye.

2. Patients/Materials and Methods

In this cohort study, between February and May 2022, in the selected 15 provinces having an adequate number of health care personnel in the community health centers to conduct the study, 32,300 people having the first, the second, or the booster dose of the vaccination as TURKOVAC were invited to the survey. A total of 29,584 people voluntarily agreed to participate to the survey and were given a structured questionnaire after a minimum of 10 days following the vaccination. The response rate was 91.6%.

The inclusion criteria were having been administered the TURKOVAC vaccine as the first or the second dose of the primary vaccination or as the booster dose following two-dose inactivated (CoronaVac) or two-dose mRNA (BNT162B2) vaccines as the primary vaccination protocol and not having COVID-19 (confirmed by PCR) in the last six months. In our survey, prior COVID-19 vaccine doses and vaccine type were not asked.

The distribution of the baseline, such as age group and sex, and allergic reaction characteristics of the participants were presented by using frequency, percentage, mean \pm SD, and median (Min-Max).



This study was approved by Ankara City Hospital Ethics Committee No:2. The Ethical Committee approval permits contacting vaccinated people by phone and to conduct questionnaires for safety monitoring. We have no access to any other data regarding previous vaccination(s) and detailed medical history. Verbal consent was also obtained before the telephone survey, at the beginning of the phone conversation.

People were contacted by community health center personnel. Each participant was called (using their landline/mobile phone numbers that they stated) three times; if no response was obtained from the person, he/she was assumed as “no response”.

Regarding the allergic-adverse-event-reporting phase of the questionnaire, participants were asked to answer if they have any history allergy/allergens, the characteristic details of the allergens, and if they experienced any allergic reaction following vaccination and the onset time of the allergic reaction.

All data were analyzed using SPSS software (version-23, IBM Corp., Armonk, NY, USA).

3. Results

The baseline characteristics of the participants are presented in Tables 1 and 2.

Table 1. Distribution of baseline characteristics of the participants.

	(n)	(%)
Sex		
Male	16,097	54.4
Female	13,487	45.6
Age Group		
<20	466	1.6
20–24	841	2.8
25–29	1189	4.0
30–34	1590	5.4
35–39	2192	7.4
40–44	2520	8.5
45–49	2394	8.1
50–54	2481	8.4
55–59	2876	9.7
60–64	3099	10.5
65–69	3496	11.8
70–74	2483	8.4
75+	2294	7.8
Unknown	1663	5.6

Table 2. Distribution of mean and median age of the participants by sex.

Sex	Mean ± SD	Med (Min–Max)
Male	53.2 ± 15.9	54.5 (18–100)
Female	52.5 ± 16.7	54.5 (18–102)
Total	52.9 ± 16.2	54.5 (18–102)

In this study, 29,584 people participated in the telephone survey. Of the participants, 54.4% (16,097) were male and 45.6% (13,487) of them were female. Of the participants, 66.4% were under 65 years of age. Only 1.6% of the participants were below 20 years of age. The



predominant age group was 65–69 years (11.8%). The percentages of other age groups are as follows: 20–24 (2.8%), 25–29 (4.0%), 30–34 (5.4%), 35–39 (7.4%), 40–44 (8.5%), 45–49 (8.1%), 50–54 (8.4%), 55–59 (9.7%), 60–64 (10.5%), 65–69 (11.8%), 70–74 (8.4%), 75+ (7.8%). Of the participants, 5.6% (1663) had an unknown age. Mean \pm SD: 52.9 \pm 16.2, median (Min–Max): 54.5 (18–102).

The distribution of self-reported history of allergy and self-reported allergic reaction experience following vaccination by age group is presented in Table 3. The distribution of percentages of self-reported history of allergy and self-reported allergic reaction experience following vaccination by age group have a similar trend by age group. For the participants under 20 years of age, the percentage of self-reported history of allergy was 4.5% (21 people) and the percentage of self-reported allergic reaction experience following vaccination was 0.4% (two people). For the participants in the 20–24 age group, the percentage of self-reported history of allergy was 5.9% (50 people) and the percentage of self-reported allergic reaction experience following vaccination was 0.2% (two people). For the participants in the 25–29 age group, the percentage of self-reported history of allergy was 5.9% (70 people) and the percentage of self-reported allergic reaction experience following vaccination was 0.7% (eight people). For the participants in the 30–34 age group, the percentage of self-reported history of allergy was 4.5% (71 people) and the percentage of self-reported allergic reaction experience following vaccination was 0.4% (seven people). For the participants in the 35–39 age group, the percentage of self-reported history of allergy was 4.9% (107 people) and the percentage of self-reported allergic reaction experience following vaccination was 0.4% (nine people). For the participants in the 40–44 age group, the percentage of self-reported history of allergy was 5.0% (127 people) and the percentage of self-reported allergic reaction experience following vaccination was 0.4% (10 people). For the participants in the 45–49 age group, the percentage of self-reported history of allergy was 4.9% (117 people) and the percentage of self-reported allergic reaction experience following vaccination was 0.5% (12 people). For the participants in the 50–54 age group, the percentage of self-reported history of allergy was 5.9% (135 people) and the percentage of self-reported allergic reaction experience following vaccination was 0.4% (10 people). For the participants in the 55–59 age group, the percentage of self-reported history of allergy was 5.3% (153 people) and the percentage of self-reported allergic reaction experience following vaccination was 0.7% (21 people). For the participants in the 60–64 age group, the percentage of self-reported history of allergy was 4.7% (146 people) and the percentage of self-reported allergic reaction experience following vaccination was 0.4% (11 people). For the participants in the 65–69 age group, the percentage of self-reported history of allergy was 3.4% (118 people) and the percentage of self-reported allergic reaction experience following vaccination was 0.5% (19 people). Among the 70–74 age group participants, the percentage of self-reported history of allergy was 3.3% (83 people) and the percentage of self-reported allergic reaction experience following vaccination was 0.9% (22 people). Of the participants above 75 years of age, the percentage of self-reported history of allergy was 2.7% (61 people) and the percentage of self-reported allergic reaction experience following vaccination was 0.3% (six people). For the participants with unknown age, the percentage of self-reported history of allergy was 3.5% (56 people) and the percentage of self-reported allergic reaction experience following vaccination was 0.9% (three people).

Of the participants, 46.9% (13,869 people) reported to have any adverse reaction following the vaccination.

Only 142 people reported to experience any allergic reaction following vaccination. This number comprises 0.5% of the total our survey participants and 1.0% of the participants reporting any adverse reaction. Of these 142 participants, 55.6% of them (79 people) were male and 44.4% of them (63 people) were female. Of the participants reporting any allergic reaction, 12 of them (8.5%) reported to be given medical treatment and prescription in a health center. No hospitalization was recorded.



Table 3. Distribution of self-reported history of allergy and self-reported allergic reaction rates following vaccination by age group.

Age Group	Self-Reported History of Allergy (n = 1315)		Allergic Reaction Following Vaccination (n = 142)	
	#	Rate %	#	Rate %
<20	21	4.5	2	0.4
20–24	50	5.9	2	0.2
25–29	70	5.9	8	0.7
30–34	71	4.5	7	0.4
35–39	107	4.9	9	0.4
40–44	127	5.0	10	0.4
45–49	117	4.9	12	0.5
50–54	135	5.9	10	0.4
55–59	153	5.3	21	0.7
60–64	146	4.7	11	0.4
65–69	118	3.4	19	0.5
70–74	83	3.3	22	0.9
75+	61	2.7	6	0.3
Unknown	56	3.5	3	0.9

Of the participants, 4.4% (1315 people) reported to have a self-reported allergy history. Of the participants who reported to have any self-reported allergy history, 42.7% were male.

The distribution of self-reported allergens by the participants with a known history of allergy is presented in Table 4. The most reported allergens among participants with a known history of allergy were drugs (26.8%) (antibiotics, other medicines, and analgesics), pollen (23.2%), and house dust/dust (18.0%). Other reported allergens/sources were food (12.6%), unknown (9.0%), bees (3.6%), irritants (Detergents, chemicals, metal, wool) (3.3%), allergic rhinitis/eczema (2.6%), perfume (2.1%), grass/other plants (1.8%), sun (1.8%), animals (1.4%), hot/cold/humidity (1.2%), tobacco smoke/other smoke (1.1%), insect bite (0.4%), latex (0.1%), and psychogenic (0.1%).

Among the participants without a known history of allergy ($n = 28,269$), 0.4% of them (110 people) reported to experience an allergic reaction following the vaccination, and 5.4% of the allergic reactions (six people) were reported to be treated in a health center. The percentage of the participants given any medical treatment among the participants without a known history of allergy was 0.02%. Among the participants reported to experience any allergic reaction with a recorded onset of time ($n = 132$), 59.1% of them (78 people) reported to have an allergic reaction on the first day, 10.6% of them (14 people) on the second day, and 6.8% of them (nine people) on the third day and after following the vaccination. Almost all were reported as skin reactions. No immediate or anaphylactic reaction was reported.

A comparison of the experience of any allergic reaction and self-reported history of allergy following the vaccination is given in Figure 1. Among the participants with a known history of allergy ($n = 1315$), 32 people (2.4% of them) reported experiencing an allergic reaction following the vaccination. Among those 32 people, 18.7% of them (six people) reported to be prescribed medical treatment. The percentage of the participants given any medical treatment among the participants with a known history of allergy is 0.4%. The distribution of allergens reported by those six people are: food (two people), pollen (two people), house dust/dust (two people), latex (one person), sun (one person), and unknown (one person).



Table 4. Distribution of self-reported allergens/sources by the participants with known history of allergy.

Allergen	#	% Among Total Participants (n = 29,584)	% Among Participants with Known History of Allergy (n = 1315)
Drugs	352	1.190	26.768
Pollen	305	1.031	23.193
House dust/ dust	237	0.801	18.022
Food	166	0.561	12.623
Unknown	118	0.399	8.973
Bees	48	0.162	3.650
Irritants (detergents, chemicals, metal, wool)	43	0.145	3.269
Allergic rhinitis/eczema	34	0.115	2.585
Perfume	28	0.095	2.129
Grass/other plants	24	0.081	1.825
Sun	24	0.081	1.825
Animals	18	0.061	1.368
Hot/cold/humidity	16	0.054	1.216
Tobacco smoke/ other smoke	15	0.051	1.140
Insect bite	5	0.017	0.380
Latex	2	0.007	0.152
Psychogenic	1	0.003	0.076

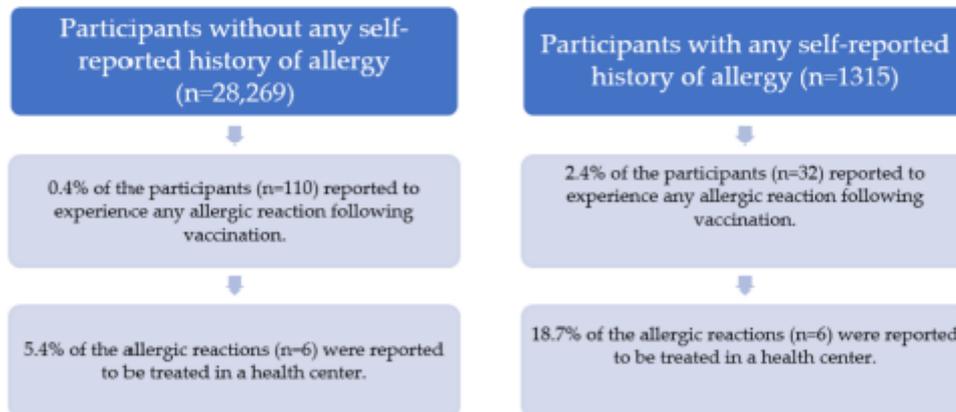


Figure 1. Comparison of experience of any allergic reaction and self-reported history of allergy following the vaccination.

In regard to the distribution of self-reported post-vaccination allergic reaction rates among participants with a self-reported history of allergy, stratified by age group, the self-reported post-vaccination allergic reaction rates were high among all age groups and significantly higher among <20 (21.2 times), 30–34 (8.6 times), 35–39 (24.4 times), 40–44 (18.8 times), 45–49 (6.5 times), 55–59 (7.1 times), 60–64 (7.6 times), and 65–69 (5.4 times) age groups (Table 5).



Table 5. Distribution of self-reported post-vaccination allergic reaction rates among participants with self-reported history of allergy, stratified by age group.

Age Group	Self-Reported Post-Vaccination Allergic Reaction Rates				RR (95% CI)	p
	Participants with Self-Reported History of Allergy		Participants without Self-Reported History of Allergy			
	(n)	Rate %	(n)	Rate %		
<20	1	4.8	1	0.2	21.2 (1.4–327.2)	0.002
20–24	-	-	2	0.3	-	-
25–29	1	1.4	7	0.6	2.3 (0.3–18.3)	0.385
30–34	2	2.8	5	0.3	8.6 (1.7–43.4)	0.036
35–39	5	4.7	4	0.2	24.4 (6.6–89.4)	<0.001
40–44	5	3.9	5	0.2	18.8 (5.5–64.3)	<0.001
45–49	3	2.6	9	0.4	6.5 (1.8–23.7)	0.018
50–54	1	0.7	9	0.4	1.9 (0.3–15.1)	0.429
55–59	6	3.9	15	0.6	7.1 (2.8–18.1)	0.001
60–64	3	2.1	8	0.3	7.6 (2.0–28.3)	0.013
65–69	3	2.5	16	0.5	5.4 (1.6–18.2)	0.024
70–74	2	2.4	20	0.8	2.9 (0.7–12.2)	1.660
75>	-	-	6	0.3	-	1.000

4. Discussion

The COVID-19 vaccines used are based on different vaccine platforms. The different platforms are based on nucleic acids, artificial vectors or recombinant viruses, virus protein subunits, or live attenuated or inactivated viruses [11]. The Pfizer-BioNTech (BNT162b2) vaccines against COVID-19 are mRNA-based vaccines with the lipid nanoparticle encapsulated, and encode the prefusion-stabilized full-length spike protein of SARS-CoV-2. The Moderna (mRNA-1273) vaccines are also mRNA-based vaccines. The Janssen Ad26.COV2.S vaccine comprises a recombinant, replication-incompetent adenovirus serotype 26 (Ad26) vector, and encodes a stabilized full-length spike protein of SARS-CoV-2 [12]. Randomized controlled trials with these vaccines showed a low rate of severe side effects [12]. Vaccines and their side effects are associated with vaccination acceptance [13,14].

In this study, we conducted a rapid self-assessment of allergic adverse events following the first, second, or the booster doses of the TURKOVAC™ vaccine.

In our study, only 28.0% of the participants were above 65 years of age, although the elderly are the most vulnerable and among the top priority population for COVID-19. Inactivated CoronaVac and BNT162B2 mRNA vaccinations were started on January 2021 and April 2021, respectively. The elderly population was among the primary risk groups when COVID-19 vaccination was launched. Since this group has already been vaccinated with primary and even booster doses of inactivated and mRNA vaccines that are currently in use in Türkiye, the percentage of the participants above 65 years of age who were vaccinated with the TURKOVAC vaccine is relatively low.

In this study, the percentage of the participants under 20 years of age was notably low (1.6%). TURKOVAC vaccination was initiated from 18 years of age onwards.

Of the participants, 4.4% reported to have any allergy history. The most reported allergens were drugs, which constituted 1.2% of the total number of participants and 26.8% of the participants with a known history of allergy. In a phase III trial of TURKOVAC, the most common pre-existing condition among the TURKOVAC arm was allergic conditions, which constituted 2.6% (six persons) of all (456 persons) [10].



In this study, 0.5% of the total participants reported experiencing any allergic reaction following the vaccination. In phase III trial of the vaccine, the incidences of adverse events overall were 58.8% in TURKOVAC and 49.7% in CoronaVac arms ($p = 0.006$), with no fatalities or grade-four adverse events [10]. In a self-administered online survey following inactivated SARS-CoV-2 vaccine (CoronaVac) conducted in China among 1526 health care workers between 24 February and 7 March 2021, 1.0% of the participants reported an allergic reaction [15].

In this study, no immediate or anaphylactic reaction was reported by the participants. Anaphylaxis is a serious, life-threatening allergic reaction [16]. According to the American Academy of Allergy, Asthma & Immunology (AAAAI), the most common anaphylactic reactions are to foods, insect stings, medications, and latex [16]. Anaphylaxis as an adverse event following immunization (AEFI) is uncommon, occurring at a rate of less than 1 per million doses for most vaccines [17].

The incidence of SARS-CoV-2 vaccine anaphylaxis is 7.91 cases per million [18]. The prevalence of COVID-19 mRNA vaccine-associated anaphylaxis is very low and proposed to be associated with polyethylene glycol (PEG) and derivatives. Anaphylaxis rates for Pfizer-BioNTech and Moderna are reported as 11.1 and 2.5 per million doses in U.S. Non-anaphylactic reactions occur at higher rate; however, cutaneous reactions are largely self-limited [11,17–21].

Among the participants reporting to experience any allergic reaction, 55.6% were male (whereas only 42.7% of the participants who reported to have any self-reported allergy history were male). This finding is different from the findings of various studies on allergic adverse events. In a study in which reported allergic adverse events (between December 2020 and June 2021) following COVID-19 vaccinations were analyzed, 84.6% of the patients with allergic reactions were women [10]. In another study on reports of adverse events following two or three doses of the Pfizer-BioNTech COVID-19 vaccine obtained from four cross-sectional studies, the risks of adverse events (including allergic adverse events) were higher following the second dose and consistently higher in females at all ages [17]. There are also studies reporting a female predominance of allergic reactions following administration of other vaccines as well [22]. In another study where China's adverse events following immunization (AEFI) system data (of 53 vaccines) from 2015 to 2018 were analyzed, the incidence (AEFI) in males was higher than that in females [23].

Besides routine adverse event following immunization (AEFI) monitoring systems, rapid AEFI assessment becomes quite significant for the community acceptance of newly introduced vaccines such as COVID-19 vaccines. Telephone surveys have several advantages, such as providing a geographically widely distributed sample and the inclusion of additional participants living in remote areas, providing a rapid and high population coverage and lower costs of interview [24].

This study has some limitations. In this study, only some factors (age, sex, presence of underlying chronic disease, known history of allergy) could be assessed; the inclusion of the other factors such as vaccine dose, vaccine used for previous vaccination(s), nature of the allergic reaction, and allergic reaction history following the previous COVID-19 vaccination(s) could provide a more detailed evaluation point of view. Self-reporting as the main method used in our survey might have led to biases regarding the validity and severity of the allergic reaction.

5. Conclusions

In our study, only 0.5% of the participants reported to experience any self-reported allergic reaction. Male predominance (55.6%) was observed among participants reported to experience any allergic reaction. A known history of allergy increased the risk of having an allergic experience by approximately six times following vaccination. These results present valuable information for the community and may contribute to growing vaccine acceptance.



In conclusion, as a whole-virion inactivated SARS-CoV-2 vaccine, the TURKOVAC™ vaccine, with a low allergic reaction-related adverse event profile, can be an alternative to other COVID-19 vaccines. Larger studies may provide more detailed data.

Author Contributions: A.K., A.C., P.Ö. and İ.A. were involved in the conception and design of the survey; E.T. and S.T. were involved in the analysis and interpretation of the data; all authors were involved in the drafting of the paper; A.K. was involved in revising it critically for intellectual content; and all authors were involved in the final approval of the version to be published. All authors agree to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This study was technically supported by Health Institutes of Turkey (TUSEB), Türkiye Vaccine Institute. This study was technically supported by Public Health General Directorate for the collection of data process. The survey was administered voluntarily. No additional funding resource was needed for the conduct of this study and the preparation of this article. There was no restriction on collecting, interpreting, or publishing the data.

Institutional Review Board Statement: The study was approved by Ankara City Hospital Ethics Committee No:2. The Ethical Committee approval permits to access vaccinated people by phone and to conduct questionnaire for safety monitoring. We have no access to any other data regarding previous vaccination and detailed medical history.

Informed Consent Statement: Verbal consent was obtained before telephone survey, at the beginning of phone conversation.

Data Availability Statement: Data supporting the findings of this study are available on request from the corresponding author, A.K. The data are not publicly available due to their containing information that could compromise the privacy of research participants.

Acknowledgments: The authors would like to thank all participants who voluntarily participated to the survey and community health center personnel for their endeavors.

Conflicts of Interest: All authors have no relevant financial or non-financial competing interest to report. No employee from SABİM was involved as an author. The authors Fehminaz Temel and Selmur Topal have been working for the MoH Field Epidemiology Program and were primarily involved in the analysis and interpretation of the data.

References

1. Timeline: WHO's COVID-19 Response. Available online: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/interactive-timeline> (accessed on 30 January 2023).
2. Coronavirus Disease (COVID-19): Vaccines. Available online: [https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/coronavirus-disease-\(covid-19\)-vaccines](https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/coronavirus-disease-(covid-19)-vaccines) (accessed on 30 January 2023).
3. Watson, O.J.; Barnsley, G.; Toor, J.; Hogan, A.B.; Winskill, P.; Ghani, A.C. Global impact of the first year of COVID-19 vaccination: A mathematical modelling study. *Lancet Infect. Dis.* **2022**, *22*, 1293–1302. [CrossRef] [PubMed]
4. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard. Available online: <https://covid19.who.int> (accessed on 30 January 2023).
5. Sampath, V.; Rabinowitz, G.; Shah, M.; Jain, S.; Diamant, Z.; Jesenak, M.; Rabin, R.; Vieths, S.; Agache, I.; Akdis, M.; et al. Vaccines and allergic reactions: The past, the current COVID-19 pandemic, and future perspectives. *Allergy* **2021**, *76*, 1640–1660. [CrossRef]
6. Statement for Healthcare Professionals: How COVID-19 Vaccines Are Regulated for Safety and Effectiveness, Joint Statement from the International Coalition of Medicines Regulatory Authorities and World Health Organization (Revised March 2022). Available online: <https://www.who.int/news/item/17-05-2022-statement-for-healthcare-professionals-how-covid-19-vaccines-are-regulated-for-safety-and-effectiveness> (accessed on 14 November 2022).
7. Allergic Reactions Including Anaphylaxis After Receipt of the First Dose of Pfizer-BioNTech COVID-19 Vaccine—United States, 14–23 December 2020. *MMWR. Morb. Mortal. Wkly. Rep.* **2021**, *70*, 46–51. [CrossRef]
8. Allergic Reactions Including Anaphylaxis after Receipt of the First Dose of Moderna COVID-19 Vaccine—United States, 21 December 2020–10 January 2021. *MMWR. Morb. Mortal. Wkly. Rep.* **2021**, *70*, 125–129. [CrossRef] [PubMed]
9. Özdağdelen, A.; Sezer, Z.; Pavel, S.T.L.; Inal, A.; Yetiskin, H.; Kaplan, B.; Uygut, M.A.; Bayram, A.; Mazicioglu, M.; Unuvar, G.K.; et al. Safety and immunogenicity of an inactivated whole virion SARS-CoV-2 vaccine, TURKOVAC, in healthy adults: Interim results from randomised, double-blind, placebo-controlled phase 1 and 2 trials. *Vaccine* **2023**, *41*, 380–390. [CrossRef] [PubMed]



10. Tanriover, M.D.; Aydin, O.A.; Guner, R.; Yildiz, O.; Celik, I.; Doganay, H.L.; Kose, S.; Akhan, S.; Akalin, E.H.; Sezer, Z.; et al. Efficacy, Immunogenicity, and Safety of the Two-Dose Schedules of TURKOVAC versus CoronaVac in Healthy Subjects: A Randomized, Observer-Blinded, Non-Inferiority Phase III Trial. *Vaccines* **2022**, *10*, 1865. [CrossRef] [PubMed]
11. Bian, S.; Li, L.; Wang, Z.; Cui, L.; Xu, Y.; Guan, K.; Zhao, B. Allergic Reactions After the Administration of COVID-19 Vaccines. *Front. Public Health* **2022**, *10*, 878081. [CrossRef] [PubMed]
12. Barbaud, A.; Garvey, L.H.; Arcolaci, A.; Brockow, K.; Mori, F.; Mayorga, C.; Bonadonna, P.; Atanaskovic-Markovic, M.; Moral, L.; Zanoni, G.; et al. Allergies and COVID-19 vaccines: An ENDA/EAACI Position paper. *Allergy* **2022**, *77*, 2292–2312. [CrossRef] [PubMed]
13. Hatmal, M.M.; Al-Hatamleh, M.A.L.; Olaimat, A.N.; Mohamud, R.; Fawaz, M.; Kateeb, E.T.; Alkhairy, O.K.; Tayyem, R.; Lounis, M.; Al-Raei, M.; et al. Reported Adverse Effects and Attitudes among Arab Populations Following COVID-19 Vaccination: A Large-Scale Multinational Study Implementing Machine Learning Tools in Predicting Post-Vaccination Adverse Effects Based on Predisposing Factors. *Vaccines* **2022**, *10*, 366. [CrossRef] [PubMed]
14. Turner, P.J.; Larson, H.; Dubé, É.; Fisher, A. Vaccine Hesitancy: Drivers and How the Allergy Community Can Help. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.* **2021**, *9*, 3568–3574. [CrossRef] [PubMed]
15. Zhang, M.-X.; Zhang, T.-T.; Shi, G.-F.; Cheng, F.-M.; Zheng, Y.-M.; Tung, T.-H.; Chen, H.-X. Safety of an inactivated SARS-CoV-2 vaccine among healthcare workers in China. *Expert Rev. Vaccines* **2021**, *20*, 891–898. [CrossRef] [PubMed]
16. Anaphylaxis. Available online: <https://www.aaaai.org/conditions-treatments/allergies/anaphylaxis> (accessed on 30 January 2023).
17. Turner, P.J.; Ansotegui, I.J.; Campbell, D.E.; Cardona, V.; Ebisawa, M.; El-Gamal, Y.; Fineman, S.; Geller, M.; Gonzalez-Estrada, A.; Greenberger, P.A.; et al. COVID-19 vaccine-associated anaphylaxis: A statement of the World Allergy Organization Anaphylaxis Committee. *World Allergy Organ. J.* **2021**, *14*, 100517. [CrossRef] [PubMed]
18. Greenhawt, M.; Abrams, E.M.; Shaker, M.; Chu, D.K.; Khan, D.; Akin, C.; Alqurashi, W.; Arkwright, P.; Baldwin, J.L.; Ben-Shoshan, M.; et al. The Risk of Allergic Reaction to SARS-CoV-2 Vaccines and Recommended Evaluation and Management: A Systematic Review, Meta-Analysis, GRADE Assessment, and International Consensus Approach. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.* **2021**, *9*, 3546–3567. [CrossRef] [PubMed]
19. Alhumaid, S.; Al Mutair, A.; Al Alawi, Z.; Rabaan, A.A.; Tirupathi, R.; Alomari, M.A.; Alshakhes, A.S.; Alshawi, A.M.; Ahmed, G.Y.; Almusabeh, H.M.; et al. Anaphylactic and nonanaphylactic reactions to SARS-CoV-2 vaccines: A systematic review and meta-analysis. *Allergy Asthma Clin. Immunol.* **2021**, *17*, 1–24. [CrossRef] [PubMed]
20. Toledo-Salinas, C.; Scheffler-Mendoza, S.C.; Castano-Jaramillo, L.M.; Ortega-Martell, J.A.; Del Rio-Navarro, B.E.; Santibáñez-Copado, A.M.; Díaz-Ortega, J.L.; Baptista-Rosas, R.; Sánchez-Novoa, P.; García-Grimshaw, M.; et al. Anaphylaxis to SARS-CoV-2 Vaccines in the Setting of a Nationwide Passive Epidemiological Surveillance Program. *J. Clin. Immunol.* **2022**, *42*, 1593–1599. [CrossRef] [PubMed]
21. Green, M.S.; Peer, V.; Magid, A.; Hagani, N.; Anis, E.; Nitzan, D. Gender Differences in Adverse Events Following the Pfizer-BioNTech COVID-19 Vaccine. *Vaccines* **2022**, *10*, 233. [CrossRef] [PubMed]
22. McNeil, M.M.; DeStefano, F. Vaccine-associated hypersensitivity. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2018**, *141*, 463–472. [CrossRef] [PubMed]
23. Hu, R.; Peng, S.; Liu, Y.; Tang, F.; Wang, Z.; Zhang, L.; Gao, J.; Guo, H. The characteristics and trend of adverse events following immunization reported by information system in Jiangsu province, China, 2015–2018. *BMC Public Health* **2021**, *21*, 1338. [CrossRef] [PubMed]
24. Boland, M.; Sweeney, M.R.; Scallan, E.; Harrington, M.; Staines, A. Emerging advantages and drawbacks of telephone surveying in public health research in Ireland and the U.K. *BMC Public Health* **2006**, *6*, 208. [CrossRef] [PubMed]

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.