



İnsan Aşılarında Kalıntı Ovalbümin: İmmünojenik Risk, Düzenleyici Boşluklar ve Alerjen İçermeyen Stratejilerin Kapsamlı Bir Değerlendirmesi

Residual Ovalbumin in Human Vaccines: A Comprehensive Review of Immunogenic Risk, Regulatory Gaps, and Allergen-Free Strategies

Ayşegül Bülbül^{1,3} (iD), Ateş Kara^{2,3} (iD)

¹ Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

² Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

³ Türkiye Sağlık Enstitüleri Başkanlığı, Türkiye Aşı Enstitüsü, Ankara, Türkiye

Makale atfı: Bülbül A, Kara A. İnsan aşılarında kalıntı ovalbümin: İmmünojenik risk, düzenleyici boşluklar ve alerjen içermeyen stratejilerin kapsamlı bir değerlendirmesi. J Pediatr Inf 2025;19(4):263-273.

Öz

Ovalbümin (OVA), yapısal olarak karmaşık ve immünolojik açıdan güçlü bir glikoprotein olup, yumurta akı proteinlerinin baskın olanıdır ve immünoloji araştırmalarında yaygın olarak kullanılan bir model alerjendir. Deneyel alerji modellerinde değerli bir yere sahip olmasına rağmen, embriyolu tavuk yumurtaları kullanılarak üretilen aşılar da artık olarak bulunması nedeniyle klinik açıdan da bir endişe kaynağıdır. İz miktardaki OVA, duyarlı bireylerde IgE aracılı aşırı duyarlılık reaksiyonlarını tetikleyebilir ve bu durum aşı güvenliği, etiketleme tutarlılığı ve risk iletişimi gibi konularda önemli soruları gündeme getirmektedir. Bu derleme, OVA'yı moleküler, klinik ve düzenleyici bakış açılarından kapsamlı şekilde analiz etmektedir. Alerjenitesine katkıda bulunan yapısal belirleyicileri, aşı üretim süreçleri boyunca kalıcılığını ve artık düzeylerin tespiti konusundaki analitik zorlukları inceliyoruz. Ayrıca, gelişmiş işleme yöntemleri, rekombinant aşı platformları ve epitop-maskeleme teknolojileri gibi ortaya çıkan alerjen azaltma stratejilerini değerlendiriyoruz. Hücre kültürü ve mRNA tabanlı aşılar gibi alternatif üretim sistemleri de OVA maruziyetini tamamen ortadan kaldırma potansiyelleri açısından değerlendirilmektedir. Yapısal biyoloji, klinik immünoloji ve halk sağlığı politikalarından elde edilen verileri entegre ederek, bu derleme artık OVA'nın oluşturduğu çevirimsel riskleri ve bu riskleri azaltabilecek yenilikçi yaklaşımları vurgulamaktadır. Bulgular, hassasiyete dayalı aşı tasarımına geçişi ve küresel bağışıklama programlarında alerjen yönetim stratejilerinin yeniden tanımlanmasını desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: Ovalbümin, alerji riski, aşı güvenliği, regülasyon eksiklikleri, alerjen içermeyen aşılar

Abstract

Ovalbumin (OVA), a structurally complex and immunologically potent glycoprotein, is the predominant egg white protein and a widely used model allergen in immunological research. Despite its value in experimental allergy models, OVA also represents a clinical concern due to its residual presence in vaccines produced using embryonated hen eggs. Trace amounts of OVA can trigger IgE-mediated hypersensitivity reactions in sensitized individuals, raising critical questions about vaccine safety, labeling consistency, and risk communication. This review presents a comprehensive analysis of OVA from molecular, clinical, and regulatory perspectives. We explore the structural determinants of its allergenicity, its persistence across vaccine production pipelines, and the analytical challenges in detecting residual levels. Furthermore, we assess emerging allergen-reduction strategies, including advanced processing methods, recombinant vaccine platforms, and epitope-masking technologies. Alternative production systems such as cell-culture and mRNA-based vaccines are also evaluated in terms of their potential to eliminate OVA exposure entirely. By integrating data from structural biology, clinical immunology, and public health policy, this review highlights both the translational risks posed by residual OVA and the innovations that may mitigate them. The findings support a shift toward precision-based vaccine design and a redefinition of allergen management strategies in global immunization programs.

Keywords: Ovalbumin, allergy risk, vaccine safety, regulatory gaps, allergen-free vaccines

Yazışma Adresi/Correspondence Address

Ayşegül Bülbül

Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi,
Biyokimya Anabilim Dalı,
Ankara, Türkiye

E-mail: aysegul_bulbul@hacettepe.edu.tr

Geliş Tarihi: 21.05.2025 Kabul Tarihi: 06.09.2025

Çevrim İçi Yayın Tarihi: 25.12.2025

Bu eser CC BY-NC Atıf-GayriTicari Türev Eser Yaratma 4.0 Uluslararası Lisansı kapsamında lisanslanmıştır.

Veri Paylaşım Beyanı: Bu çalışmanın bulgularını destekleyen veriler, makul talepler doğrultusunda sorumlu yazardan temin edilebilir.

*Telif Hakkı 2025 Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları ve Bağışıklama Derneği. Makale metnine www.cocukenfeksiyon.org web sayfasından ulaşılabilir.

Giriş

Gıdalardan kaynaklanan alerjenler arasında ovalbümin (OVA), yapısal olarak en karmaşık ve immünolojik olarak en güçlü glikoproteinlerden biri olarak öne çıkmaktadır. Yaklaşık 45 kilodalton moleküler ağırlığı ve 4.5 ile 4.9 arasında değişen izoelektrik noktası (pI) ile OVA, fizyolojik koşullar altında yüksek çözünürlük ve bağışıklık reseptörlerine güçlü bağlanma afinitesi sergiler; bu özellikleri, alerji ve immünoloji araştırmalarında uzun süredir model antijen olarak kullanılmasının temelini oluşturur (1). Konformasyonel ve lineer IgE bağlanma epitoplarının kombinasyonu, mast hücre degranülasyonu, eozinofili ve yüksek IgE titreleri dahil olmak üzere Th2 ağırlıklı bağışıklık tepkilerinin güçlü bir şekilde aktivasyonunu sağlar (2). Deneysel yararının ötesinde, OVA, embriyonlu tavuk yumurtaları kullanılarak üretilen aşılarında istemeden bulunması nedeniyle klinik öneme sahiptir. Safılaştırma yöntemleri yumurta protein içeriğini önemli ölçüde azaltmasına rağmen, genellikle nanogram aralığında eser düzeylerde kalabilir. Klinik kanıtlar, bu düşük seviyeli kalıntıların, anafilaksi öyküsü olanlar da dahil olmak üzere, şiddetli yumurta alerjisi olan kişilerde bile genellikle iyi tolere edildiğini göstermektedir (3). Bu immünojeniklik potansiyeli, klinisyenler ve düzenleyici otoriteler arasında endişe yaratmıştır. Bununla birlikte, eser düzeydeki ovalbümin varlığı, duyarlı bireylerde IgE aracılı aşırı duyarlılık reaksiyonlarını tetikleyebilme olasılığı nedeniyle hala klinik dikkatle izlenmektedir. Özellikle inaktive yumurta bazlı aşılar için evrensel kabul görmüş eşik değerlerin olmaması ve tutarsız etiketleme uygulamaları, immünojenik riskin tamamen göz ardı edilemeyeceğini ortaya koymaktadır (4). Dreskin ve arkadaşları gibi uluslararası konsensüs raporları, tavuk embriyo fibroblastları kullanılarak üretilen kızamık ve kabakulak gibi canlı zayıflatılmış aşılardan, yüksek duyarlılığa sahip kişiler için bile klinik olarak önemsiz kabul edilen pikogram miktarlarında yumurta proteini kalıntıları içerdiğini belirtse de, tüm aşı platformlarında, özellikle inaktif yumurta bazlı aşılarında OVA içeriği için evrensel olarak kabul edilen bir eşik değeri hala tanımlanmamıştır. Tutarsız etiketleme, yumurta alerjisi olan kişiler için klinik kılavuzu daha da karmaşık hale getirmektedir (5). Buna ek olarak, son zamanlarda yapılan çalışmalar, çevresel ve beslenmeyle ilgili faktörlerin OVA'nın tetiklediği bağışıklık tepkilerini nasıl güçlendirebileceğini veya zayıflatabileceğini vurgulamaktadır. Özellikle, yaygın bir gıda kaynaklı mikotoksin olan aflatoksin B1'in, TSLP-IL-33 eksenini aktive ederek BALB/c farelerinde OVA'nın neden olduğu alerjik duyarlılığı şiddetlendirdiği gösterilmiştir (6). Tersine, fruktooligosakkaritler, bağırsak mikrobiyotasını modüle ederek oral toleransı artırarak alerjik iltihabı azaltabilir (7). Toplu olarak, bu bulgular OVA'nın hem değerli bir bilimsel model hem de modern aşı platformlarında potansiyel bir immünolojik tehlike olarak ikili rolünü vurgulamaktadır. İz maruziyeti, bireysel duyarlılık ve tutarsız düzenleyici eşiklerin bir araya gelmesi, aşı güvenliği çerçevelerinde

kritik bir boşluğu ortaya koymaktadır. Bu derleme, OVA'nın biyokimyasal profili, klinik önemi ve düzenleyici etkileri hakkındaki mevcut bilgileri bir araya getirerek, çözülmemiş zorlukları ortaya çıkarmayı ve alerjen içermeyen aşı üretimi için gelecekteki stratejilere bilgi sağlamayı amaçlamaktadır.

Ovalbümin: Yapı ve İmmün Yanıt

İmmünodominant Epitoplar ve Alerjenite

Ovalbümin, küresel yüzeyinde hem doğrusal hem de konformasyonel IgE bağlayıcı epitoplar sergileyen yapısal olarak karmaşık üçüncül mimarisi nedeniyle güçlü immünojenite gösterir. Bu epitoplar ağırlıklı olarak yüzeye maruz kalır ve gastrointestinal bozunmaya direnç gösterir, böylece gıda işleme sonrasında bile sürekli immün tanıma sağlar. Yapısal ve immünokimyasal analizler, bu epitopların mast hücreleri ve bazofiller üzerindeki FcεR1 reseptörlerine yüksek afinite ile bağlandığını, çapraz bağlanmayı kolaylaştırdığını ve tip I aşırı duyarlılık reaksiyonlarının karakteristik özelliği olan hızlı degranülasyonu başlattığını göstermiştir (8). Fare modellerinde, OVA'nın oral uygulaması, serum histamin, OVA'ya özgü IgE, fare mast hücresi proteaz-1 ve IL-4, IL-5 ve IL-13 gibi Th2 sitokinleri dahil olmak üzere Th2 kaynaklı alerjik yanıtların belirgin özelliklerini tutarlı bir şekilde indükler. Bu yanıtlara ayrıca mukozal mast hücresi infiltrasyonu ve epitel iltihabı eşlik eder (9). Bağışıklık etkileşiminin ötesinde, OVA'nın alerjenik potansiyeli, termal stabilite, agregasyon eğilimi ve proteolize direnç gibi biyofiziksel özellikleri tarafından modüle edilir. Isıtma, konformasyonel epitopları bozabilirken, kısmi denatürasyon ve enzimatik sindirim, paradoksal olarak gizli IgE bağlanma bölgelerini ortaya çıkararak belirli koşullar altında immünojenikliği artırabilir (10). Kristalografik çalışmalar, işleme sırasında bile epitop konformasyonunun korunmasına katkıda bulunan stabilize β-varil çekirdeği ve glikozillenmiş yüzey kalıntıları tanımlamıştır (11). Ayrıca, ev tozu akarı ekstresi gibi çevresel ko-alerjenlerin tetiklediği proteazla aktive edilen epitel ortamlarına maruz kalmanın, epitel geçirgenliğini artırdığı ve epitop sunumunu kolaylaştırdığı, böylece eser miktarda OVA konsantrasyonlarında bile alerjik yanıtları şiddetlendirdiği gösterilmiştir (12).

Antijen Sunumu ve Th2 Polarizasyonu

Mukozaya girdikten sonra, OVA antijen sunan hücreler, özellikle dendritik hücreler tarafından hızla alınır. Bu hücreler OVA'yı işler ve MHC sınıf II kompleksleri aracılığıyla türetilmiş peptidlerini bölgesel lenf düğümlerindeki naiv CD4⁺ T hücrelerine sunarak antijene özgü adaptif bağışıklığı başlatır (13). Bu etkileşim, alerjik duyarlılaşmanın merkezi bir mekanizması olan Th2 polarizasyonunun temel itici gücüdür. Sonuçta ortaya çıkan Th2 efektör hücreleri, IL-4, IL-5 ve IL-13 dahil olmak üzere karakteristik bir sitokin profili salgılar ve bu sitokinler topluca IgE sınıfı geçişini, eozinofilik infiltrasyonu ve mukus hipersekresyonunu, özellikle akciğerler ve bağırsaklar

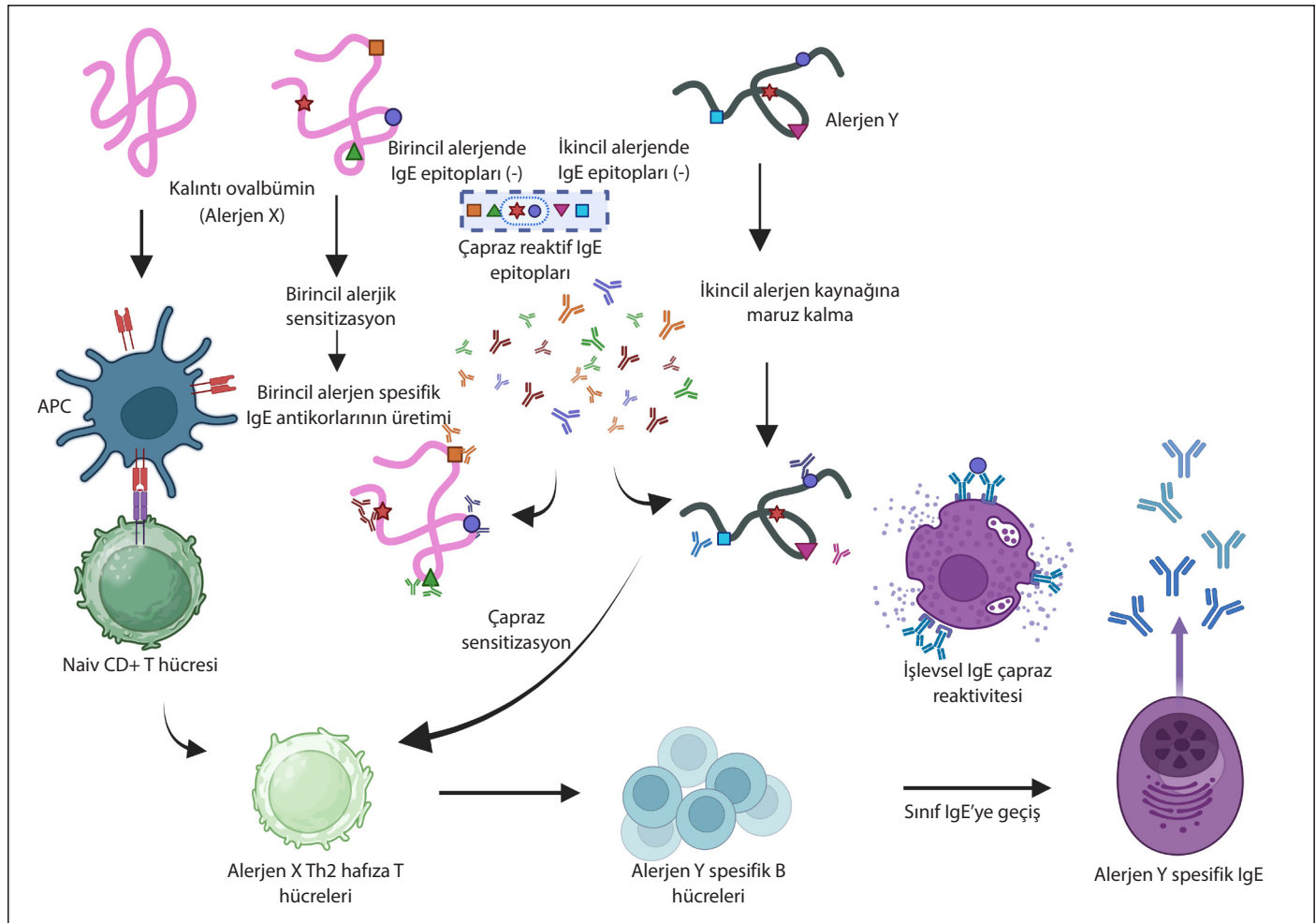
gibi mukozal dokularda teşvik eder (14). Önemli olan, antijen sunumunun kalitesi, sadece antijen yükü değil, aynı zamanda kostimülasyon sinyali ve sitokin ortamı da bağışıklık tepkisinin yoğunluğunu ve yönünü şekillendirir. İnsan monositlerinden elde edilen dendritik hücreleri kullanan in vitro çalışmalar, OVA maruziyetinin CD86 ve OX40L gibi önemli kostimülasyon moleküllerinin ekspresyonunu artırdığını ve böylece ikincil sinyal yollarını aracılığıyla Th2 polarizasyonunu güçlendirdiğini göstermiştir (15). İn vivo fare modelleri, OVA'nın uygulama yolunun bağışıklık sonuçlarını önemli ölçüde etkilediğini ortaya koymuştur. Burun içinden uygulama, belirgin pulmoner eozinofili ve hava yolu yeniden şekillenmesine neden olurken, ağızdan uygulama, epitelyal bariyer disfonksiyonu ve lokalize enflamasyon ile karakterize gastrointestinal Th2 yanıtlarına yol açmaktadır (16). Son bulgular, dizel egzoz partikülleri veya proteaz açısından zengin alerjenler gibi çevresel ko-faktörlerin OVA ile sinerji oluşturarak alerjik yanıtları güçlendirebileceğini göstermektedir. Bu eşzamanlı maruziyetler, epitel stres yollarını aktive ederek IL-25, IL-33 ve timik stromal lenfopoyetin gibi sitokinlerin salınımını artırır ve bu da Th2 stabilizasyonu-

nu ve doku düzeyinde inflamasyonu güçlendirir (17). Bu gözlemler bir araya getirildiğinde, Şekil 1'de şematik olarak özetlendiği gibi, Th2 polarizasyonu ve IgE aracılı aşırı duyarlılığın temelini oluşturan güçlü bir antijen kaynaklı kaskad ortaya çıkmaktadır.

Mukozal ve Sistemik Bağışıklık Etkileri

Lokalize bağışıklık tepkilerinin ötesinde, OVA mukozal bariyerler boyunca yaygın immünopatolojik etkiler indükler ve sistemik aşırı duyarlılıkla sonuçlanır. OVA'ya tekrar tekrar maruz kalmak, epitel homeostazını bozar, lökosit infiltrasyonunu teşvik eder ve hem solunum hem de gastrointestinal dokularda bariyer bütünlüğünü bozar.

Gıda alerjisinin fare modellerinde, OVA'nın oral yolla verilmesinin, mukozal bariyer disfonksiyonunun belirgin özellikleri olan belirgin bağırsak villus körelmesi, goblet hücre hiperplazisi ve sıkı bağlantı proteinlerinin önemli ölçüde azalmasına neden olduğu gösterilmiştir (18). Bu yapısal değişiklikler, sistemik Th2 duyarlılaşmasının göstergesi olan IL-4 ve IL-13 düzeylerinin yükselmesiyle ve dolaşımdaki OVA'ya özgü



Şekil 1. Ovalbümin kaynaklı Th2 duyarlılaşması ve IgE aracılı çapraz reaktivitenin immünolojik mekanizması (şekil yazar tarafından BioRender kullanılarak oluşturulmuştur).

IgE'nin artmasıyla aynı zamana denk gelmektedir. Solunum modelleri bu bulguları tamamlamaktadır. OVA'ya inhalasyon veya intranasal maruz kalma, pulmoner eozinofili, aşırı mukus sekresyonu ve bronş duvarı yeniden şekillenmesi dahil olmak üzere alerjik astımın belirgin özelliklerini tetikler (19). Klinik olarak, OVA reaktiviteyi kapsayan yumurta akı spesifik IgE'nin yükselmesi, çocuklarda kalıcı alerjik fenotipler ve daha büyük bir genel alerjik hastalık yükü ile ilişkilendirilmiştir, bu da OVA gibi diyet antijenlerine duyarlılığın, hava yollarını hazırlayan sistemik bağışıklık aktivasyonuna katkıda bulunabileceğini göstermektedir (20). Ortaya çıkan kanıtlar, OVA'ya karşı bölünmüş bağışıklık tepkilerini koordine etmede bağırsak-akciğer ekseninin rolünü vurgulamaktadır. Probiyotik bazlı müdahaleler, özellikle *Lactobacillus rhamnosus* ile, çift bölge etkinliği göstermiştir: Bağırsak iltihabını azaltırken aynı zamanda hava yolu aşırı duyarlılığını da hafifletir (21).

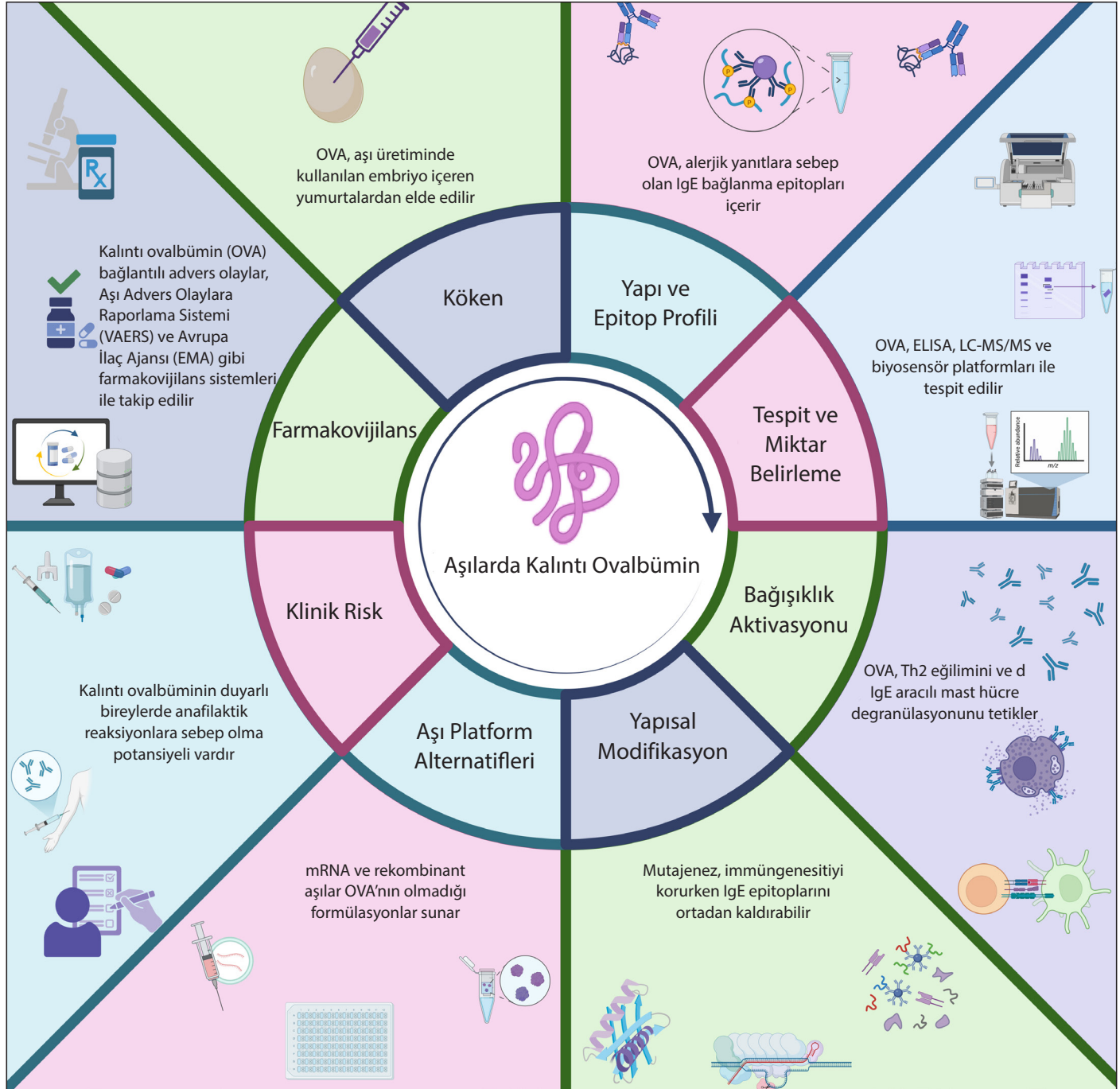
Besinler ve Biyoaktif Maddelerle İmmünomodülasyon

Ovalbümin alerjenik potansiyeli sabit değildir, ancak yapısal konformasyonunu ve epitop erişilebilirliğini değiştiren fizikokimyasal ve diyet müdahaleleriyle dinamik olarak şekillenir. İyi karakterize edilmiş bir örnek, alkali koşullar altında OVA fibrillerini stabilize ettiği gösterilen, kabuklu hayvanların dış iskeletlerinden elde edilen biyoyumlu bir polisakkarit olan kitosandır. Bu konformasyonel stabilizasyon, agregasyonu azaltır ve doğal yapıya benzer yapıyı korur, böylece in vitro IgE bağlanma afinitesini azaltır (22). Benzer şekilde, gama ışınlaması yoluyla seçici kısmi açılmanın, köpürme ve emülsifikasyon gibi OVA'nın fonksiyonel özelliklerini arttırırken, aynı zamanda immünojenikliğini azalttığı gösterilmiştir. Bu kontrollü denatürasyon, alerjenik olmayan bölgeleri ortaya çıkarır ve konformasyonel epitopları bozar, bu da hipoalerjenik formülasyon tasarımı için umut verici bir stratejiyi temsil eder (23). Yüksek basınçlı homojenizasyon, OVA'nın üçüncül yapısını bozduğu ve immünoreaktif alanları gizlediği, böylece IgE bağlanma potansiyelini azalttığı gösterildiğinden, bu kavramı daha da desteklemektedir (24). Darbeli elektrik alanları ve yüksek yoğunluklu ultrason gibi yeni ortaya çıkan termal olmayan işleme teknikleri, yapısal bütünlüğü veya besin değerini bozmadan protein konformasyonunu modüle eden ölçeklenebilir alternatifler sunmaktadır. Bu teknolojiler, alerjeniteyi azaltırken OVA'nın fonksiyonel kapasitesini korur, bu da onları endüstriyel uygulama için çekici adaylar haline getirir (25). Beslenme açısından, kateşinler ve antosiyaninler gibi doğal olarak oluşan polifenoller, OVA'nın yüzeyine maruz kalan kalıntılarla kovalent olmayan etkileşimlere girerek, önemli epitopları etkili bir şekilde maskeler ve IgE reaktivitesini azaltır (26). Ayrıca, iyonik güç modülasyonu, OVA'nın immünolojik profilinin temel belirleyicisi olarak gösterilmiştir. Monovalent (Na^+) ve divalent (Mg^{2+}) iyonlara maruz kalmak, protein yüzeyinin hidrofobikliğini ve agregasyon dinamiklerini değiştirir, bu da epitop erişilebilirliğini ve immünojenik potansiyeli etkileyebilir (27).

Yumurta Bazlı Aşı Üretiminde Ovalbümin

Yumurta bazlı aşı üretimi, ölçeklenebilirliği, maliyet etkinliği ve güvenilir viral verimi nedeniyle grip, kızamık, kabakulak, kızamıkçık (MMR) ve sarı humma aşılarının üretiminde dünya çapında baskın platform olmaya devam etmektedir (28). Ancak, embriyonlu tavuk yumurtalarının kullanılması, nihai formülasyonlara esasen OVA olmak üzere eser miktarda yumurta proteini girmesine neden olmaktadır. Yumurta akında en bol bulunan protein olan OVA, iyi karakterize edilmiş IgE bağlanma özelliklerine sahiptir ve duyarlı kişilerde aşırı duyarlılık reaksiyonlarına neden olduğu düşünülmektedir. Kalıntı ovalbüminin kökeni, immünojenisitesi ve azaltma stratejilerine dair genel bir özet Şekil 2'de sunulmuştur.

OVA içeriğini azaltmak için saflaştırma prosedürleri uygulanmasına rağmen, araştırmalar, ruhsatlı aşılarda üreticiye ve üretim sürecine bağlı olarak doz başına 0.1-1.0 µg arasında değişen kalıntı OVA seviyelerini muhafaza edebileceğini bildirmektedir (29). Bu değişkenlik, özellikle en az düzeyde maruziyete bile tepki verebilen yumurta alerjisi olan kişiler için, titiz miktar belirleme yöntemlerinin ve şeffaf etiketlemenin önemini vurgulamaktadır. OVA tespiti için analitik yöntemler, duyarlılık ve çözünürlük açısından farklılık gösterir. Enzim bağlı immünosorbent testi (ELISA), maliyet etkinliği ve pratikliği nedeniyle rutin parti testleri için yaygın olarak kullanılmaya devam etmektedir, ancak düşük seviyeli veya yapısal olarak maskeli epitopları hafife alabilir. Buna karşın, tandem kütle spektrometrisi (LC-MS/MS) ile birleştirilmiş sıvı kromatografi, özellikle yüksek saflıkta aşı preparatlarında daha yüksek çözünürlük ve parti-parti tutarlılık sağlar (30). Teorik güvenlik endişelerine rağmen, gerçek dünyadaki klinik veriler güven verici olmaya devam etmektedir. Onaylanmış yumurta alerjisi olan 58 pediatrik hastayı içeren çok merkezli bir çalışmada, kalıntı OVA içeren sarı humma aşıları, ön ilaçlama veya duyarsızlaştırma protokolleri gerektirmeden güvenli bir şekilde uygulanmıştır (31). Benzer şekilde, rekombinant stabilizatörlerin kullanımı ve minimum yumurta proteini içeriği sayesinde MMR aşılarının yumurta alerjisi olan kişilerde iyi tolere edildiği gösterilmiştir (32). Bu bulgular, daha geniş nüfuslu çalışmalarla da doğrulanmaktadır. Örneğin, yumurta alerjisi olan hastalara COVID-19 ve grip aşılarının eşzamanlı uygulanması, ciddi alerjik reaksiyonlara yol açmamış ve OVA içeriği kontrol altında tutulduğunda anafilaksi riskinin düşük olduğunu doğrulamıştır (33). Sonuç olarak, mevcut Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri ve Aşılama Uygulamaları Danışma Komitesi (ACIP) önerileri, kalıntı OVA düzeylerinin doz başına 1 µg'ın altında kaldığı sürece, yumurta alerjisini grip aşısı için bir kontrendikasyon olarak sınıflandırmamaktadır (34). Pediyatrik aşılama programlarında, aşı bileşimi konusunda netlik sağlamak, bakım verenlerin güvenliğini kazanmak ve bilinçli klinik kararlar alınmasını sağlamak için hayati önem taşır. Biyokimyasal açıdan, OVA, daha düşük glikosilasyon, azalmış termal stabilite ve gastrointestinal sin-dirime daha fazla duyarlılık nedeniyle ovomukoid (Gal d 1)



Şekil 2. Yumurta bazlı aşılarda kalıntı ovalbümin kökenini, immünojenitesini, tespiti ve azaltma stratejilerini açıklayan özet (şekil yazar tarafından Bio-Render kullanılarak oluşturulmuştur).

'den daha az alerjenik olarak kabul edilir. Bu özellikler topluca daha hafif bir alerjik profile katkıda bulunur, ancak yüksek duyarlılığa sahip konaklarda hala şiddetli reaksiyonlar görülebilir (35). Alerji danışmanlığı, özellikle pediatrik ortamlarda aşı kabulünde çok önemli bir rol oynar. Yapılandırılmış aşılama öncesi risk değerlendirmeleri ve bakım verenlerle açık iletişim, yumurta alerjisi olan ailelerin güvenini önemli ölçüde artırdığı gösterilmiştir (36). Ayrıca, VAERS gibi farmakovijilans sistemle-

ri, nadir görülen olumsuz olayları izlemeye devam etmektedir. Mevcut surveyans verileri, OVA'nın neden olduğu şiddetli anafilaksin son derece nadir olduğunu ve sıklıkla eşlik eden alerjik durumlarla karıştırıldığını doğrulamaktadır (37). Aşı üretim platformlarındaki gelişmeler bu riski daha da azaltmaktadır. Hücre bazlı ekspresyon sistemleri (örn. MDCK ve Vero hatları) ve rekombinant teknolojiler (örn. FluBlok) artık tamamen OVA içermeyen aşıların üretimini mümkün kılmaktadır. Bu yakla-

şımlar, alerjenik güvenliği ve antijenik değişikliklere karşı duyarlılığı artırmaktadır. Bununla birlikte, ekonomik ve altyapısal faktörler, birçok düşük ve orta gelirli ülkede yumurta bazlı sistemlerin hakimiyetini sürdürmeye devam etmektedir (38).

Aşı Ürünlerinde Kalan Ovalbümin Tespiti ve Miktarının Belirlenmesi

Yumurta bazlı aşılarında kalıntı OVA'nın doğru miktarının belirlenmesi, özellikle IgE aracılı yumurta alerjisi olduğu doğrulanmış kişiler için aşılama güvenliğinin kritik bir bileşeni olmaya devam etmektedir. Bunu fark eden ABD Gıda ve İlaç Dairesi ve EMA gibi düzenleyici kurumlar, aşı kalite kontrol sistemlerinde, özellikle OVA gibi eser düzeyde alerjenler için doğrulanmış analitik yöntemlerin gerekliliğini vurgulamıştır (39). Halen kullanılan testler arasında, ELISA operasyonel basitliği, uygun fiyatı ve yüksek verimli toplu testlere uyarlanabilirliği nedeniyle en yaygın olarak kullanılan yöntem olmaya devam etmektedir. Ancak ELISA, matris etkileşimi, termal ve enzimatik epitop değişikliği ve konformasyonel maskeleyme gibi çeşitli sınırlamalara tabidir ve bu da işlenmiş formülasyonlarda alerjenik potansiyelin hafife alınmasına neden olabilir (40). Bu kısıtlamaları aşmak için, sıvı kromatografi ile tandem kütle spektrometresi (LC-MS/MS) birleştirilerek, karmaşık aşı matrislerinde gelişmiş özgüllük ve tespit hassasiyeti sunan tercih edilen bir teknik olarak ortaya çıkmıştır (41). İzotopolog etiketli iç standartların dahil edilmesi, artık OVA'nın mililitre başına nanogram aralığına kadar ölçülmesini mümkün kılmaktadır. Önemli olarak, klinik çalışmalar, yaklaşık 30 ng/mL-1 µg/mL doz aralığındaki bu analitik aralıkta kalan OVA konsantrasyonlarının, önceden anafilaksi geçiren yumurta alerjisi olan kişilerde bile, sistemik reaksiyonlara neden olmadan genellikle iyi tolere edildiğini göstermiştir (42-44). Bu bulgular, ultra hassas tespit analitik güvenilirliği artırırken, bu konsantrasyonlarda klinik riskin düşük kaldığını göstermektedir. Ek olarak, matriksten kaynaklanan arka plan gürültüsünü azaltmak için artık rutin olarak kromatografik zenginleştirme adımları kullanılmaktadır ve bu da düşük bollukta analit tespitinde sinyal-gürültü oranını önemli ölçüde artırmaktadır (45). Merkezi laboratuvarların ötesinde, yeni nesil biyosensör teknolojileri, merkezi olmayan alerjen izlemenin sınırlarını genişletmektedir. Örneğin, aptamer bazlı floresan biyosensörler, termal veya kimyasal olarak denatüre koşullar altında istikrarlı performans göstererek OVA için olağanüstü seçicilik sergilemiştir (46). Paralel olarak, epitop baskılı polimerik elektrokimyasal sensörler, minimum çapraz reaktiviteyi korurken 1 ng/mL'nin altında algılama limitlerine ulaşmıştır (47). Plasmonik sinyal kaymalarını kullanan kolorimetrik nanopartikül tabanlı sensörler de, sofistike aletler gerektirmeden OVA'nın hızlı görsel tespitini mümkün kılmaktadır (48). Spektroskopik yöntemler, özellikle yüzey güçlendirilmiş Raman spektroskopisi, çoklu iletim kabiliyetleri ve heterojen matrislerde alerjenlerin ultra hassas tespiti ile dikkat çekmektedir (49). Önemli bir yeni odak noktası, OVA'nın

yapısal konformasyonu ile immünoreaktivitesi arasındaki etkilidir. Isı ve pH modülasyonu yoluyla kontrollü açılımın, IgE bağlayıcı epitopları seçici olarak ortaya çıkardığı veya koruduğu ve böylece hem alerjenik potansiyeli hem de tespit verimliliğini modüle ettiği gösterilmiştir (50). Benzer şekilde, OVA'nın üçüncül yapısının bozulması epitop erişilebilirliğini değiştirerek mast hücre aktivasyonunu azaltır ve hipoalerjenikliği artırır (51). Bu bulgular, alerjen tespit protokollerinin protein miktar tayininden öteye geçerek yapısal analizi de içermesi gerektiğini göstermektedir. Önemli olarak, rekombinant ve doğal OVA formları farklı immünojenik profiller sergilerler, bu da test standardizasyonunu ve sonuç yorumlamasını karmaşıktırır. Bu nedenle, analitik platformlar klinik olarak ilgili konformasyonel durumları yansıtan uygun referans standartları seçmelidir (52). Bu karmaşıklıklar ışığında, düzenleyici çerçeveler basit kütle tabanlı eşiklerden, yapısal immünojenisiteye dayalı işlevsel kriterlere geçmelidir. Buna göre, immünoafinite zenginleştirme ile LC-MS'yi birleştiren hibrit iş akışları, iz alerjenler için hem duyarlılık hem de özgüllük sağlamak amacıyla referans laboratuvarlarında giderek daha fazla benimsenmektedir (53). Bununla birlikte, analitik duyarlılık tek başına klinik güvenlikle eşdeğer değildir. Tespit sonuçları, hasta düzeyinde bağışıklık riski bağlamında yorumlanmalıdır. Duyarlılık eşikleri, semptom şiddeti ve duyarlılık profilleri gibi gerçek dünya sonuçlarıyla uyumlu olmalı ve EMA'nın influenza aşıları için ≤ 1 µg/doz sınırı ve yumurta alerjisi olan kişiler için bu aralıkta aşılardan güvenliğini destekleyen ACIP önerileri dahil olmak üzere mevcut düzenleyici standartlarla uyumlu olmalıdır (54,55). Gelecekteki gelişmeler muhtemelen gerçek zamanlı alerjen miktar tayini ve tabakalı risk algoritmalarını içerecek ve aşı güvenliği değerlendirmesinde hassas alerjen analitiğinin yeni bir çağının yolunu açacaktır (56).

Ovalbümin Kalıntıları Hakkında Klinik Risk ve Nüfus Temelli Kılavuzlar

Aşılarında kalan OVA genellikle nanogram ila mikrogram konsantrasyonlarında bulunsa da, belgelenmiş IgE aracılı yumurta alerjisi olan kişiler de dahil olmak üzere, sağlam klinik kanıtlar bunların güvenliğini desteklemeye devam etmektedir. 830 yumurta alerjisi olan hastayı içeren büyük bir çok merkezli kohort çalışmasında, Gagnon ve arkadaşları çalışmalarında eser miktarda OVA içeren üç değerli influenza aşılarının önceden cilt testi, doz ayarlaması veya duyarsızlaştırma protokolleri olmadan güvenli bir şekilde uygulandığını ve önemli bir aşırı duyarlılık reaksiyonu bildirilmediğini göstermiştir (57). Bu bulgular, uygun klinik gözetim altında, OVA içeren aşılardan duyarlı popülasyonlarda bile minimum immünolojik risk oluşturduğu fikrini güçlendirmektedir. Moleküler düzeyde, OVA'nın immünojenisitesi, yapısal özellikleriyle yakından bağlantılıdır. Claude ve arkadaşları, OVA'nın termal agregasyonunun, fare modellerinde IgE bağlanma kapasitesini ve mast hücre degranülasyonunu azalttığını bildirmişlerdir, bu da fiziksel denatü-

rasyonun alerjeniteyi azaltmak için kullanılabileceğini göstermektedir (58). Bunu tamamlayıcı olarak, Cao ve arkadaşları, T hücreleri immünojenikliğini korurken IgE epitoplarını seçici olarak maskeleyen glikosilasyonla modifiye edilmiş aşı antijenleri geliştirmiş ve bu antijenlerin yüksek riskli bireylerde tolerans indüksiyonu için bir platform olarak potansiyelini göstermiştir. Bu mekanik ve klinik bilgiler, aşı tasarımında alerjenik bileşenlerin pasif olarak kaçınılmasından immünojenikliğin hassas modülasyonuna doğru bir paradigma değişikliğini desteklemektedir. Bu bağlamda, OVA sadece kalıntı bir safsızlık olarak değil, aynı zamanda alerjen yönetimi ve risk tabakalaştırma stratejilerinde translaşyonel inovasyon için bir model antijen olarak da hizmet etmektedir (59).

Ovalbümün İçermeyen Aşı Üretimi için Alternatif Teknolojiler

Aşı üretimi için embriyonlu tavuk yumurtalarına devam eden bağımlılık, kaçınılmaz olarak nihai formülasyonlara kalıntı OVA girmesine neden olmaktadır. Tipik olarak eser miktarlarda bulunmasına rağmen, bu protein, özellikle pediatrik ve yüksek riskli popülasyonlarda, IgE aracılı yumurta alerjisi olan bireyler için teorik bir risk oluşturmaktadır. Sonuç olarak, bu uzun süredir devam eden üretim modeli, güvenlik, ölçeklenebilirlik ve uyarlanabilirliği bir araya getiren OVA içermeyen aşı platformlarına yönelik küresel bir çabayı tetiklemiştir (60).

En eski ve klinik olarak en çok doğrulanmış alternatifler arasında, özellikle bakulovirüs ekspresyon vektör sistemi kullanılarak geliştirilen rekombinant protein aşıları bulunmaktadır. Baxter ve arkadaşları çalışmalarında böcek hücrelerinde üretilen üçlü rekombinant hemaglutinin influenza aşısı olan FluBlok'un yüksek antijen saflığı ve yumurta proteinlerinin tamamen ortadan kaldırılmasıyla, yumurtaya duyarlı kişilerde bile olumlu tolere edilebilirlik gösterdiğini kanıtlamıştır (61). Benzer şekilde, MDCK veya Vero hücrelerini kullanan hücre bazlı aşı platformları, hem mevsimsel grip hem de pandemiye yanıt aşıları üretme konusunda öne çıkmıştır. Bu sistemler, yumurta bazlı platformlara kıyasla daha yüksek parti tutarlılığı, daha hızlı üretim süreleri ve antijenik sapmaya daha iyi adaptasyon sağlar (62). Bununla birlikte, en dönüştürücü ilerleme, Comirnaty ve Spikevax örneklerinde görüldüğü gibi, mRNA aşı teknolojilerinin yaygın olarak kullanılması olmuştur. Bu aşılar, lipid nanoparçacıklarla kapsüllenmiş mRNA'yı konak hücrelere ulaştırarak, yumurtadan elde edilen proteinleri eklemekten in vivo antijen ekspresyonunu mümkün kılar. Anderson ve arkadaşlarının çalışmaları mRNA aşılarının, alerjik yatkınlığı olan alıcılarda bile güçlü immünojenisite ve uygun güvenlik profilleri sağladığını göstermiştir (63). Bordry ve arkadaşları, demografik olarak farklı kohortlarda minimum aşırı duyarlılık reaksiyonları ile dayanıklı humoral yanıtları daha da doğrulamıştır (64). Bu büyük platformların ötesinde, yeni antijen dağıtım stratejileri aktif olarak araştırılmaktadır. Park ve arkadaşları, OVA ile işlevselleştirilmiş multivalan nanopartiküller-

rin bağımsızlık yanıtını Th1 fenotipine yönlendirebileceğini, IgE katılımını etkili bir şekilde en aza indirebileceğini ve tolerans odaklı bir immünojenik profili teşvik edebileceğini göstermiştir (65). Gerçek dünya güvenliği perspektifinden bakıldığında, pazarlama sonrası gözetim bu bulguları doğrulamıştır. Woo ve arkadaşları, rekombinant influenza aşılarının popülasyon düzeyindeki güvenlik verilerini analiz etmiş ve minimal alerjik advers olaylar bildirmiş, bu da alerjiye yatkın popülasyonlarda bu platformların pratik yararını desteklemiştir (66). Bu sonuçlar, özellikle gelecekteki pandemiye hazırlık ve alerjen duyarlı popülasyonlar bağlamında, yumurta bazlı üretime küresel bağımlılığı azaltmak için rekombinant ve hücre kaynaklı aşı alt-yapısına sürekli yatırım yapılmasını vurgulayan Dünya Sağlık Örgütü'nün politika önerileriyle uyumludur (67).

Ovalbümün İmmünojenikliğin Yeniden Tasarımı: Translaşyonel Yollar ve Hassas Stratejiler

Aşı geliştirme, OVA kalıntıları ile ilgili endişelere yanıt olarak, pasif alerjen eliminasyonundan aktif immünolojik yenden mühendisliğe doğru stratejik bir dönüşüm geçirmektedir. Bir zamanlar yumurta bazlı aşılar da kaçınılmaz bir kontaminant olarak kabul edilen OVA, artık nanoteknoloji, immünoloji ve sentetik biyoloji sayesinde yeni potansiyele sahip modüle edilebilir bir antijen olarak kabul edilmektedir. Bu yeniliğin temel taşı, alerjenikliğin immünojeniklikten ayırmak için tasarlanmış OVA işlevselleştirilmiş nanomalzemelerin kullanılmasıdır. McCright ve arkadaşları, OVA ile konjüge edilmiş polimerik nano taşıyıcıların, dendritik hücre aktivasyonunu yeniden programlayarak, Th1 eğilimli yanıtları teşvik ettiğini ve fare modellerinde IgE aracılı reaktiviteyi bastırdığını göstermiştir (68). Bunu tamamlayıcı olarak, narirutin ve fruktooligosakkaritler gibi diyet immünomodülatörlerinin bağırsak epitel bariyerlerini güçlendirdiği ve Th2 sitokin yanıtlarını aşağı regüle ettiği, böylece gıda alerjisi modellerinde oral tolerans indüksiyonunu kolaylaştırdığı gösterilmiştir (69). Benzer şekilde, mikrobiyota hedefli stratejiler, özellikle *L. rhamnosus* takviyesi, OVA ile indüklenen hava yolu aşırı duyarlılığı modellerinde IL-4 ve IL-5 salgısını baskıladığı, eozinofil infiltrasyonunu azalttığı ve düzenleyici T hücreleri aktivitesini geri kazandırdığı bulunmuştur, bu da solunum alerjisinin hafifletilmesinde yararlarını doğrulamaktadır (70). Antijenik düzeyde, epitop mühendisliği, hipoalerjenik OVA varyantlarının rasyonel tasarımını mümkün kılmıştır. Dona ve Suphioglu, bölgeye yönelik mutagenезinin, T hücreleri immünojenikliğini korurken IgE bağlanma motiflerini etkili bir şekilde susturabileceğini göstermiş ve yeni nesil hipoalerjenik aşı formülasyonlarının temelini atmıştır (71). Bu arada, hesaplamalı immünolojideki ilerlemeler, makine öğrenimi ve epitop tarama dizileri yoluyla prelinik alerjenite tahminini mümkün kılmaktadır. Grewal ve arkadaşları, alerjenik sıcak noktaları belirlemek ve erken aşama değerlendirme için antijenik adayları sınıflandırmak için biyoinformatik araçları ve küratörlü alerjen veritabanlarını birleştiren bütünlleştirici bir al-

goritma önermiştir (72). Formülasyon biliminde, in situ çapraz bağlı hidrojel gibi enjekte edilebilir kontrollü salım platformları, antijen salımının kinetik kontrolünü sağlar. Lee ve arkadaşları çalışmalarında OVA ile yüklü hyaluronik asit bazlı hidrojellerin, serum IgE, Th2 sitokinleri ve eozinofilik enflamasyonu azaltarak alerjik rinit fare modellerinde alerjik yanıtları önemli ölçüde zayıflattığını bildirmiştir (73). Bu bulgular, immün yanıt kinetiğini modüle etmek ve güvenlik profillerini iyileştirmek için fizikokimyasal olarak ayarlanmış antijen dağıtım sistemlerinin yararını vurgulamaktadır. Bu yeniliklere rağmen, gerçek dünya verileri, klinik protokoller altında yönetildiğinde aşılarıdaki eser miktarda OVA maruziyetinin duyarlı bireyler için ihmal edilebilir bir risk oluşturduğunu teyit etmektedir. Bir kohort çalışmasında Kim ve arkadaşları, yumurta alerjisi doğrulanmış hastalar arasında bile, grip aşısı sonrası advers reaksiyonların nadir ve genellikle hafif olduğunu, ciddi sonuçların ise uygun ön tarama ve gözlem yoluyla öngörülebilir ve önlenabilir olduğunu bulmuştur (74).

Tartışma

Bu derleme, yumurta bazlı aşı formülasyonlarında paradigmatik bir kalıntı alergen olarak OVA'yı kapsamlı bir şekilde incelemiş ve immünoloji, aşı üretimi ve halk sağlığı düzenlemeleri üzerindeki geniş kapsamlı etkilerini ortaya koymuştur. Tarih-sel olarak eser miktarda bir kirletici olarak kabul edilen OVA, alergen miktarının belirlenmesi, aşı güvenliği analizi ve hassas immünoprofilaksi alanlarında daha geniş kapsamlı zorlukların moleküler bir göstergesi olarak giderek daha fazla kabul görmektedir. OVA'nın hem klinik olarak ilgili bir alergen hem de yapısal olarak bilgilendirici bir model protein olarak ikili doğası, biyofarmasötik işleme ve immünolojik reaktivitenin kesişimini anlamak için benzersiz bir bakış açısı sunmaktadır. İncelenen kanıtlardan, alerjenikliğin protein konsantrasyonunun tek boyutlu bir fonksiyonu olmadığı, ancak epitop yapısı, glikosilasyon durumu, matris bağlamı ve konakçıya özgü immün yatkınlığı içeren karmaşık, çok ölçekli etkileşimlerden ortaya çıktığı açıktır.

Teknolojik gelişmeler, bu riski daha hassas bir şekilde yönetmek için yeni fırsatlar sunmuştur. Kütle spektrometrisi, epitop baskısı ve aptamer biyosensörü, artık hasta güvenliği için anlamlı eşiklerde yüksek çözünürlüklü tespit imkanı sunmaktadır. Buna paralel olarak, rekombinant ve mRNA tabanlı platformlar, OVA içermeyen aşı üretiminin sadece uygulanabilir değil, aynı zamanda ölçeklenebilir olduğunu da göstermektedir. Bu, alerjenlere karşı savunmasız popülasyonlar ve pandemiye hazırlık açısından özellikle önemlidir. Mevcut araştırmalardan ortaya çıkan özellikle ilgi çekici bir yön, immünolojik yeniden mühendislik kavramıdır. Yalnızca OVA'nın ortadan kaldırılmasına odaklanmak yerine, epitop susturma, konformasyonel maskeleme ve immünomodülatör konjugasyon gibi son stratejiler, antijenlerin immünojenik etkinliğini korumak için yapısal olarak modifiye edilebileceğini ve aynı zamanda

aşırı duyarlılık risklerini önemli ölçüde azaltılabileceğini göstermektedir. Bu yöntemler, reaktif alergen gideriminden proaktif immün tolerans tasarımına, eşik tabanlı riskten sistem tabanlı immünolojik okuryazarlığa bir geçişi işaret etmektedir. Düzenleyici çerçeveler bu yeniliklere ayak uydurmalıdır. Etiketleme hassasiyeti, parti düzeyinde açıklama ve uyumlu tespit standartları, yargı bölgeleri arasında değişkenlik gösteren bir şekilde uygulanmaya devam etmektedir. Yapısal alerjenliklik ölçütlerini düzenleyici yollara entegre etmek ve bunları gerçek dünyadaki klinik sonuçlarla uyumlu hale getirmek, gelecekteki ilerleme için kilit öneme sahip olacaktır. Esasen, OVA artık sadece bir kalıntı endişe kaynağı değildir; alergen güvenli, yapısal olarak bilgilendirilmiş ve hasta merkezli aşı biliminin geleceğinin öngörülebileceği bir mercek görevi görmektedir. Moleküler inceleme, translasyonel içgörü ve düzenleyici iyileştirmeler yoluyla, aşı güvenliğinin gidişatı önlem amaçlı kaçınmadan akıllı entegrasyona yönlendirilebilir.

Sonuç

İmmünolojik araştırmalarda uzun süredir model alergen olarak kullanılan OVA, yumurta bazlı aşılarında pasif bir iz bileşenden, aşı güvenliği ve hassas immünoloji konusunda gelişen tartışmalarda moleküler bir dayanak noktasına dönüşmüştür. Sadece kalıntı miktarlarda bulunmasına rağmen, duyarlı kişilerde IgE aracılı aşırı duyarlılığı tetikleme kapasitesi, onu hem bilimsel bir araç hem de düzenleyici bir zorluk olarak konumlandırmaktadır. Bu inceleme, alerjenikliğin sadece konsantrasyonla değil, moleküler yapı, glikosilasyon durumu, epitop erişilebilirliği, konakçı bağışıklık bağlamı ve formülasyon değişkenleri gibi bir dizi faktörle de belirlendiğini göstermektedir. Bu bilgiler, statik güvenlik eşiklerinin sınırlarını vurgulamakta ve yapı-fonksiyon bilgisine dayalı immünojenik risk değerlendirmelerini savunmaktadır. Teknolojik yenilikler, aşı alanını hızla dönüştürmektedir. Rekombinant, hücre kültürü ve mRNA tabanlı platformlar artık yumurtadan bağımsız çözümler sunarak, güvenliği artırırken ölçeklenebilirlik ve pandemiye yanıt verme yeteneği sağlayan OVA içermeyen formülasyonlar mümkün kılmaktadır. Buna paralel olarak, LC-MS/MS, immünoafinite zenginleştirme ve aptamer tabanlı biyosensörler gibi analitik gelişmeler, eser alerjenlerin hassas ve güvenilir bir şekilde tespit edilmesini sağlayarak kalite güvencesini ve risk iletişimini güçlendirmektedir. Daha da ileride, bu alanda bir paradigma değişimi yaşanmaktadır: alergen gideriminden immüno-mühendisliğe doğru. Epitop susturma, konformasyonel maskeleme ve hesaplamalı alerjenlik tahmini, OVA'yı inert bir kalıntı olarak değil, alerjenik riski en aza indirirken bağışıklık stimülasyonunu korumak için yeniden programlanabilen, değiştirilebilir bir antijen olarak yeniden tanımlamıştır. Bu, OVA'yı hassas aşı bilimi alanında daha geniş stratejileri test etmek için bir platform olarak konumlandırmaktadır. Sonuç olarak, OVA örneği, kalıntı proteinlerin sadece ortadan kaldırılmaması, aynı zamanda anlaşılması gerektiğinin ikna edici bir örneği olarak hizmet etmektedir. Moleküler immünoloji,

analitik bilim ve düzenleyici politikayı entegre eden sistem düzeyinde bir bakış açısı, gelecekteki aşı tasarımı için çok önemlidir. Ovalbümin, bir kirlenici olmaktan ziyade, bizi daha akıllı, daha güvenli ve daha şeffaf aşılama stratejilerine yönlendiren bir moleküler sinyal olan bir paradigma haline gelmektedir.

Hakem Değerlendirmesi: Dışarıdan hakem değerlendirmesi yapılmıştır.

Yazar Katkıları: Fikir - Tüm yazarlar; Tasarım - Tüm yazarlar; Denetleme - AK; Kaynaklar - AK; Veri Toplanması ve/veya işleme - AB; Analiz ve/veya - Tüm yazarlar; Literatür taraması - AB; Yazıyı yazan - AB; Eleştirel inceleme - AK.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Finansal Destek: Yazarlar bu çalışma için finansal destek almadıklarını beyan etmişlerdir.

Kaynaklar

1. Takahashi H, Fujii T, Yamakawa S, Yamada T, Sato M, Watanabe T. Combined oral intake of short and long fructans attenuates ovalbumin-induced food allergy in mice. *BMC Microbiol* 2023;23:52. <https://doi.org/10.1186/s12866-023-03021-6>
2. Hou Y, Zheng S, Zou F, Wang D, Da H, Zhang S, et al. Lactobacillus rhamnosus 76 alleviates airway inflammation in ovalbumin-induced asthma model via Th2 cytokine inhibition. *Immunobiology* 2023;228(2):152712. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2023.152712>
3. Howe LE, Conlon AS, Greenhawt MJ, Sanders GM. Safe administration of seasonal influenza vaccine to children with egg allergy of all severities. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2011;106(5):446-7. <https://doi.org/10.1016/j.anai.2011.01.024>
4. Gulani M, Arte T, Ferguson A, Pasupuleti D, Adediran E, Harsoda Y, et al. Recent advancements in non-invasive vaccination strategies. *Vaccines (Basel)* 2025;13(9):978. doi: 10.3390/vaccines13090978.
5. Dreskin SC, Halsey NA, Kelso JM, Wood RA, Hummell DS, Edwards KM, et al. International Consensus (ICON): allergic reactions to vaccines. *World Allergy Organ J* 2016;9:32. <https://doi.org/10.1186/s40413-016-0120-5>
6. Deng Y, Chen H, Wu Y, Yuan J, Shi Q, Chen L. Aflatoxin B1 can aggravate BALB/c mice allergy induced by ovalbumin via TSLP-IL-33 axis activation. *Toxicol* 2023;225:107121. <https://doi.org/10.1016/j.toxicol.2023.107121>
7. Yan X, Yan J, Xiang Q, Wang F, Dai H, Zhao L. Fructooligosaccharides protect against OVA-induced food allergy via promoting gut microbiota-mediated immune tolerance. *Food Funct* 2021;12:2915-26. <https://doi.org/10.1039/D0FO03371E>
8. Gieras A, Linhart B, Roux KH, Dutta M, Khodoun M, Badithe A, et al. IgE epitope proximity determines immune complex shape and effector cell activation capacity. *J Allergy Clin Immunol* 2016;137(5):1557-65. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2015.08.055>
9. Kim HI, Kim JK, Kim JY, Han MJ, Kim DH. Fermented red ginseng and ginsenoside Rd alleviate ovalbumin-induced allergic rhinitis in mice by suppressing IgE, interleukin-4, and interleukin-5. *J Ginseng Res* 2019;43(3):384-91. <https://doi.org/10.1016/j.jgr.2019.02.006>
10. Golias J, Schwarzer M, Wallner M, Kverka M, Kozakova H, Hrcir T. Heat-induced structural changes affect OVA-antigen processing and reduce allergic response in mouse model of food allergy. *PLoS One* 2012;7(5):e37156. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0037156>
11. Huntington JA, Stein PE. Structure and properties of ovalbumin. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 2001;756(1-2):189-98. [https://doi.org/10.1016/S0378-4347\(01\)00108-6](https://doi.org/10.1016/S0378-4347(01)00108-6)
12. Jacquet A. Interactions of airway epithelium with protease allergens in the allergic response. *Clin Exp Allergy* 2011;41(3):305-13. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2010.03661.x>
13. Huang J, Zhang J, Wang X, Jin Z, Zhang P, Su H, et al. Effect of probiotics on respiratory tract allergic disease and gut microbiota. *Front Nutr* 2022;9:821900. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.821900>
14. Zuurveld M, Díaz CB, Redegeld FA, Folkerts G, Bruggeman RJ, Nijkamp FP, et al. An advanced in vitro human mucosal immune model to predict food sensitizing allergenicity risk: A proof of concept using ovalbumin as model allergen. *Front Immunol* 2023;13:1073034. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1073034>
15. Zuurveld M, Kiliaan PCJ, Van Grinsven SEL, Van Neerven RJJ, Garsen J, Knippels LMJ, et al. Ovalbumin-induced epithelial activation directs monocyte-derived dendritic cells to instruct type 2 inflammation in T cells. *J Innate Immun* 2023;15(1):222-36. <https://doi.org/10.1159/000526528>
16. Dunkin D, Berin MC, Mayer L. Allergic sensitization can be induced via multiple physiologic routes in an adjuvant-dependent manner. *J Allergy Clin Immunol* 2011;128(6):1251-8.e2. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2011.06.007>
17. Duchesne M, Okoye I, Lacy P. Epithelial cell alarmin cytokines: Front-line mediators of the asthma inflammatory response. *Front Immunol* 2022;13:975914. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.975914>
18. Kim DI, Song MK, Kim SJ, Kim IS, Shin MY, Shin HS, et al. Comparison of asthma phenotypes in OVA-induced mice challenged via inhaled and intranasal routes. *BMC Pulm Med* 2019;19:177. <https://doi.org/10.1186/s12890-019-1001-9>
19. Flanagan TW, Jaeger C, Walsh MT, Harrington FJ, Carroll TP. 5-HT2 receptor activation alleviates airway inflammation and structural remodeling in a chronic mouse asthma model. *Life Sci* 2019;239:117018. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.116790>
20. Kim JD, Kim SY, Kwak EJ, Sol IS, Kim MJ, Kim YH, et al. Reduction rate of specific IgE level as a predictor of persistent egg allergy in children. *Allergy Asthma Immunol Res* 2019;11(4):498-507. <https://doi.org/10.4168/aaair.2019.11.4.498>
21. Li S, Li M, Li G, Liu H, Zhu W, Sui D, et al. Lactobacillus rhamnosus RL-H3-005 ameliorates allergic airway inflammation by modulating the gut microbiota in asthmatic mice. *Food Sci Hum Wellness* 2024. <https://doi.org/10.26599/FSHW.2024.9250282>
22. Chen Q, Dong L, Li Y, Liu Y, Xia Q, Sang S. Research advance of non-thermal processing technologies on ovalbumin properties: The gelation, foaming, emulsification, allergenicity, immunoregulation and its delivery system application. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2024;1-21.
23. Jiménez-Saiz R, Benedé S, Molina E, López-Expósito I. Effect of processing technologies on the allergenicity of food products. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2015;55(13):1902-17. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.736435>
24. Dong X, Wang J, Raghavan V. Critical reviews and recent advances of novel non-thermal processing techniques on the modification of food allergens. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2021;61(14):2203-23. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1722942>
25. Hu X, Wang H, Hu Y, Tu Z. Insight into the effects of pulsed electric field on the structure, aggregation characteristics and functional properties of whey proteins. *Food Hydrocolloids* 2024;139:109230. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2024.110111>

26. Pi X, Sun Y, Cheng J, Fu G, Guo M. A review on polyphenols and their potential application to reduce food allergenicity. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2023;63(21):2936-55. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2078273>
27. Wu H, Chen B, Wu Y, Gao J, Li X, Tong P, et al. New perspectives on food matrix modulation of food allergies: immunomodulation and component interactions. *J Agric Food Chem* 2023;71(22):8570-85. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c03192>
28. Sampath V, Rabinowitz G, Shah M, Jain S, Diamant Z, Nadeau KC. Vaccines and allergic reactions: the past, the current COVID-19 pandemic, and future perspectives. *Allergy* 2021;76(6):1640-60. <https://doi.org/10.1111/all.14840>
29. Li F, Liu B, Xiong Y, Zhang Z, Zhang Q, Qiu R, et al. Enhanced downstream processing for a cell-based avian influenza (H5N1) vaccine. *Vaccines (Basel)* 2024;12(2):138. <https://doi.org/10.3390/vaccines12020138>
30. Röder M, Wiacek C, Lankamp F, Kreyer J, Weber W. Improved sensitivity of allergen detection by immunoaffinity LC-MS/MS using ovalbumin as a case study. *Foods* 2021;10(12):2932. <https://doi.org/10.3390/foods10122932>
31. Cançado BLB, Aranda CS, Mallozi MC, Weckx LY, Solé D. Egg allergy and yellow fever vaccination. *J Pediatr (Rio J)* 2024;100(2):156-62. <https://doi.org/10.1016/j.jped.2023.07.004>
32. Clark AT, Skypala I, Leech SC, Ewan PW, Dugue P, Brathwaite N, et al. BSACI guideline for the diagnosis and management of egg allergy. *Clin Exp Allergy* 2010;40(8):1116-29. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2010.03557.x>
33. Gouma S, Zost SJ, Parkhouse K, Branche AR, Topham DJ, Cobey S, et al. Comparison of human H3N2 antibody responses elicited by egg-based, cell-based, and recombinant protein-based influenza vaccines during the 2017-2018 season. *Clin Infect Dis* 2020;71(6):1447-53. <https://doi.org/10.1093/cid/ciz996>
34. Centers for Disease Control and Prevention (CDC); Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). Prevention and control of seasonal influenza with vaccines: Recommendations of the ACIP United States, 2023-24 influenza season. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2023;72(29):822-8. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm7202a1>
35. Dhanapala P, De Silva C, Doran T, Suphioglu C. Cracking the egg: an insight into egg hypersensitivity. *Mol Immunol* 2015;63(2):76-85. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2015.04.016>
36. Turner PJ, Southern J, Andrews NJ, Miller E, Erlewyn-Lajeunesse M. Safety of live attenuated influenza vaccine in young people with egg allergy: multicentre prospective cohort study. *BMJ* 2015;351:h6291. <https://doi.org/10.1136/bmj.h6291>
37. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Update: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) regarding the use of influenza vaccine in egg-allergic individuals United States, 2023. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2023;72(40):1122-6.
38. Barr IG, Donis RO, Katz JM, McCauley JW, Odagiri T, Trusheim MR, et al. Cell culture-derived influenza vaccines in the severe 2017-2018 epidemic season: a step towards improved influenza vaccine effectiveness. *NPJ Vaccines* 2018;3:44. <https://doi.org/10.1038/s41541-018-0079-z>
39. Do Minh A, Kamen AA. Critical Assessment of Purification and Analytical Technologies for Enveloped Viral Vector and Vaccine Processing and Their Current Limitations in Resolving Co-Purified Contaminants. *Vaccines (Basel)* 2021;9(8):823. <https://doi.org/10.3390/vaccines9080823>
40. Hu W, Zhang X, Shen Y, Meng X, Wu Y, He J, et al. Quantifying allergenic proteins using antibody-based methods or liquid chromatography-mass spectrometry/mass spectrometry: A review about the influence of food matrices and processing. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 2024;23(2):e70029. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.70029>
41. Torkamannejad S, Chang G, Aroge FA, Sun B. Single isotopologue for in-sample calibration and absolute quantitation by LC-MS/MS. *J Proteome Res* 2024;23(4):1351-9. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.3c00848>
42. Mahler V, Junker AC. Anaphylaxis to additives in vaccines: current insights and implications for clinical practice. *Allergo J Int.* 2022;31(6):159-168. doi:10.1007/s40629-022-00215-8. <https://doi.org/10.1007/s40629-022-00215-8>
43. Des Roches A, Paradis L, Gagnon R, Lemire C, Bégin P, Carr S, et al. Safe vaccination of patients with egg allergy with an adjuvanted pandemic H1N1 vaccine. *J Allergy Clin Immunol* 2010;126(2):317-23. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2010.05.037>
44. Greenhawt MJ, Chernin AS, Howe L, Li JT, Sanders GM. The safety of H1N1 influenza A vaccine in egg-allergic individuals. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2010;105(5):387-93. <https://doi.org/10.1016/j.anai.2010.08.015>
45. Blom L, Verwer BJ, de Jonge J, Hendriksen CF. Reducing protein impurities in vaccine formulations. *Vaccine* 2014;32(23):2707-13.
46. Hong L, Pan M, Xie X, Liu K, Yang J, Wang S, et al. Aptamer-based fluorescent biosensor for the rapid and sensitive detection of allergens in food matrices. *Foods* 2021;10(11):2598. <https://doi.org/10.3390/foods10112598>
47. Khumsap S, Chanlek N, Pinyosopon T, Chailapakul O, Numnuam A. Label-free electrochemical immunosensor for sensitive detection of ovalbumin. *Bioelectrochemistry* 2021;139:107805. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2021.107805>
48. Xu L, Liu Y, He Y, Zhang M, Yu Q. Colorimetric detection of ovalbumin using gold nanoparticle-based plasmonic sensors. *Microchem J* 2023;186:109349. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2023.109349>
49. Fu Y, Wang C, Zhang H, Zhang D, Huang D. Multiplex detection of allergens using SERS. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* 2021;259:119673.
50. Yang H, Zhang L, Wu T, Li J, Chen Z. Heat/pH modification of OVA structure and detection. *Food Biosci* 2024;54:104148.
51. Liu R, Zhou Y, Sun Y, Huang X, Chen W. Unfolding pathways and allergenicity reduction of ovalbumin. *J Agric Food Chem* 2023;71(45):16582-91. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c04613>
52. Rupa P, Mine Y. Recombinant versus native ovalbumin: Comparative allergenicity. *Clin Exp Allergy* 2003;33(9):1267-73.
53. Sharma VK, Sharma I, Glick J. The expanding role of mass spectrometry in the field of vaccine development. *Mass Spectrom Rev* 2020;39(5):453-72. <https://doi.org/10.1002/mas.21571>
54. European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM). European Pharmacopoeia. Monograph 01/2023:0159 - Influenza vaccine (inactivated). Strasbourg (France): Council of Europe; 2023. Ovalbumin limit ≤ 1 µg per dose.
55. Grohskopf LA, Shay DK, Shimabukuro TT, Sokolow LZ, Keitel WA, Bresee JS, et al. Prevention and control of seasonal influenza with vaccines: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), United States, 2013-2014. *MMWR Recomm Rep* 2014;62(RR-07):1-43.
56. Taylor SL, Baumert JL, Kruizinga AG, Remington BC, Blom WM, Vlieg-Boerstra BJ, et al. Establishment of reference doses for residues of allergenic foods: report of the VITAL Expert Panel. *J Allergy Clin Immunol* 2014;133(1):156-64. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.10.032>
57. Gagnon R, Primeau MN, Des Roches A, Lemire C, Kagan R, Clarke AE, et al. Safe vaccination of patients with egg allergy against influenza: a prospective cohort study. *J Allergy Clin Immunol* 2010;126(2):317-23.

58. Claude M, Lupi R, Bouchaud G, Bodinier M, Brossard C, Denery-Papini S. The thermal aggregation of ovalbumin as large particles decreases its allergenicity for egg allergic patients and in a murine model. *Food Chem* 2016;203:136-44. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.054>
59. Cao H, Zhang C, Li Y, Wang Z, Zhao L, Sun X, et al. Glycosylation-modified antigens as a tolerance platform in allergic individuals. *Cell Rep Med* 2023;4(4):101346. <https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2023.101346>
60. Arunachalam AB, Post P, Rudin D. Unique features of a recombinant haemagglutinin influenza vaccine that influence vaccine performance. *NPJ Vaccines* 2021;6(1):144. <https://doi.org/10.1038/s41541-021-00403-7>
61. Baxter R, Patriarca PA, Ensor K, Izikson R, Goldenthal KL. Safety, reactogenicity and immunogenicity of FluBlok® trivalent recombinant baculovirus-expressed hemagglutinin influenza vaccine administered intramuscularly to healthy adults. *Vaccine* 2011;29(17):2891-8. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2011.01.039>
62. Rando HM, Lordan R, Lee AJ, Naik A, Wellhausen N, Sell E, et al. Application of traditional vaccine development strategies to SARS-CoV-2. *mSystems* 2023;8(2):e0092722. <https://doi.org/10.1128/msystems.00927-22>
63. Anderson EJ, Roupahel NG, Widge AT, Jackson LA, Roberts PC, Makhene M, et al. Safety and immunogenicity of SARS-CoV-2 mRNA-1273 vaccine in older adults. *N Engl J Med* 2020;383(25):2427-38. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2028436>
64. Bordry N, Mamez AC, Fedeli C, Cantero C, Jaksic C, Alonso PU, et al. SARS-CoV-2 m-RNA vaccine response in immunocompromised patients: A monocentric study comparing cancer, people living with HIV, hematopoietic stem cell transplant patients and lung transplant recipients. *Vaccines (Basel)* 2023;11(8):1284. <https://doi.org/10.3390/vaccines11081284>
65. Park J, Pho T, Champion JA. Chemical and biological conjugation strategies for the development of multivalent protein vaccine nanoparticles. *Biopolymers* 2023;114(3):e23563. <https://doi.org/10.1002/bip.23563>
66. Woo EJ, Moro PL, Cano M, Jankosky C. Postmarketing safety surveillance of trivalent recombinant influenza vaccine: Reports to the vaccine adverse event reporting system. *Vaccine* 2017;35(30):3745-50.
67. World Health Organization (WHO). Global vaccine safety blueprint 2.0 (2021-2030): Enhancing vaccine safety. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240061465>
68. McCright J, Ramirez A, Amosu M, Sinha A, Bogseth A, et al. Targeting the gut mucosal immune system using nanomaterials. *Pharmaceutics* 2021;13(11):1755. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13111755>
69. Shi X, Zhao L, Niu L, Yan Y, Chen Q, Liu L. Oral intervention of narirutin ameliorates the allergic response of ovalbumin allergy. *J Agric Food Chem* 2022;70(6):1762-73. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c05383>
70. Jang SO, Kim HJ, Kim YJ, Kang MJ, Kwon JW, Seo JH, et al. Asthma prevention by *Lactobacillus rhamnosus* in a mouse model is associated with CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ T cells. *Allergy Asthma Immunol Res* 2012;4(3):150-6. <https://doi.org/10.4168/air.2012.4.3.150>
71. Dona DW, Suphioglu C. Egg allergy: Diagnosis and immunotherapy. *Int J Mol Sci* 2020;21(14):5010. <https://doi.org/10.3390/ijms21145010>
72. Grewal S, Hegde N, Yanow SK. Integrating machine learning to advance epitope mapping. *Front Immunol* 2024;15:1463931. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1463931>
73. Lee HJ, Kim JA, Lee Y, Lim S, Kim JH, Kim JH, et al. Allergen-specific immunotherapy using injectable in situ crosslinked hyaluronic acid hydrogels ameliorates allergic response in murine allergic rhinitis models. *Allergy Asthma Immunol Res* 2024;16(3):245-57.
74. Kim JS, Kim JH, Lee SY, Lee E, Lee S, Kang MJ, et al. Delayed-Onset Anaphylaxis Caused by IgE Response to Influenza Vaccination. *Allergy Asthma Immunol Res*. 2020 Mar;12(2):359-63. <https://doi.org/10.4168/air.2020.12.2.359>