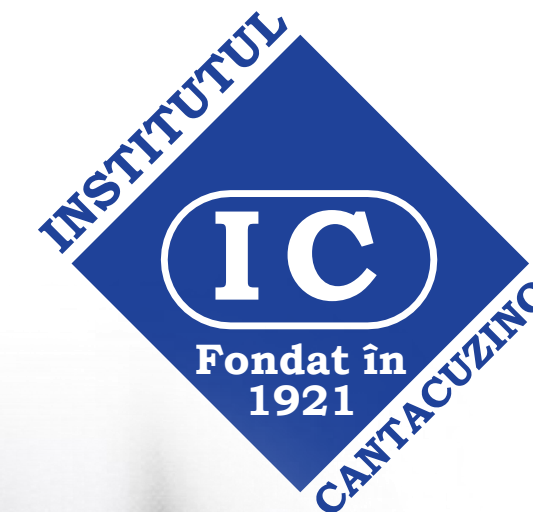


Ministerul Apărării Naționale



Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare  
Medico- Militară „Cantacuzino“

# Producerea și dezvoltarea unui vaccin: Dezvoltare tehnologică, constrângeri reglementare, limitări economice și responsabilitate socială

Adrian Onu, Cătălin Țucureanu, Alina Mihalcea, Iuliana Caraș, Irina Ionescu, Vlad Tofan, Andreea Laura Ermeneanu, Ana-Daniela Șerbănescu și Crina Stăvaru.  
Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare Medico-Militară-„Cantacuzino”

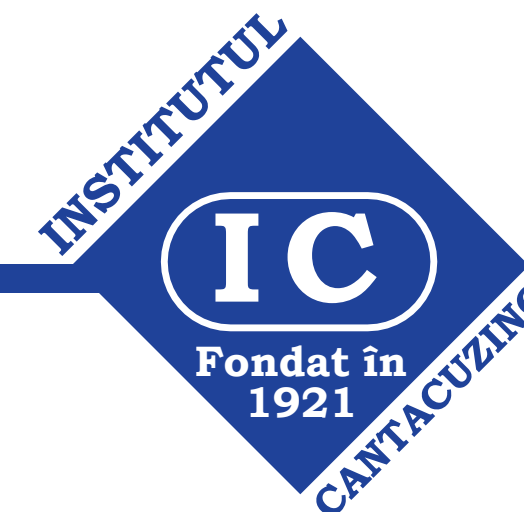
**Ziua Imunologiei 2022.**

*Motto: Siguranță pentru viitor*

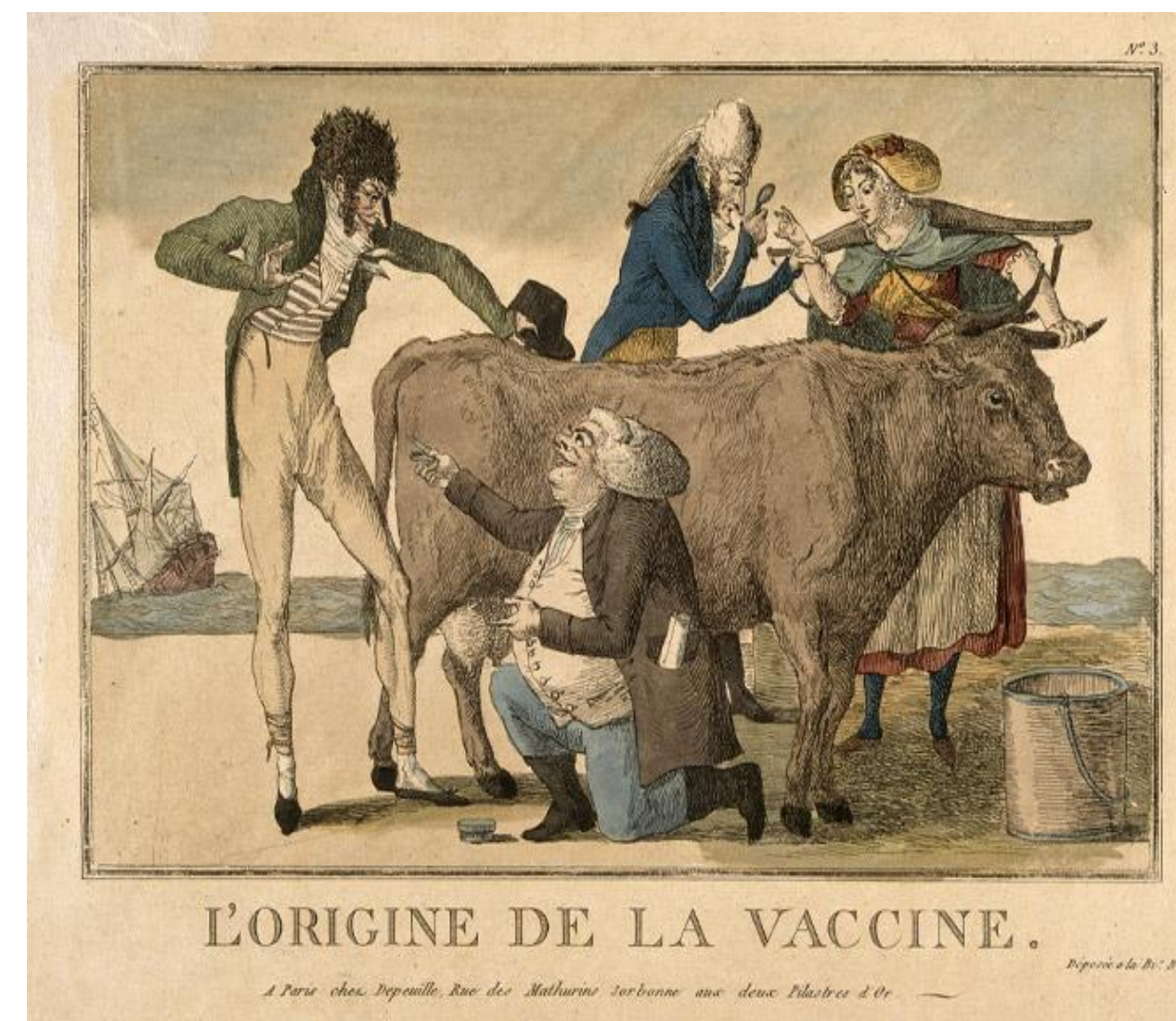




## Începuturile - Variolarea



- Prima vaccinare împotriva variolei înregistrată științific datează din 14 mai 1796. Edward Jenner a făcut prima inoculare vaccin împotriva variolei inoculând puroi de la un țăran contaminat de la vaca lui unui băiat de opt ani, James Phillips, care nu contactase niciodată variola. Copilul a prezentat ulterior o pustulă asociată vaccinării la inoculare, care s-a vindecat, iar apoi variolarea ulterioară nu a avut nici un efect.



Sursa imaginii –  
Originile vaccinării – cca  
1800



## Campanii anti vaccin



- Ideile lui Jenner erau noi pentru timpul său și au fost întâmpinate cu critici publice imediate. Pentru unii părinți, vaccinarea variola în sine a indus frica datorită reacțiilor adverse. Unii contestatari, inclusiv clerul local, a declarat vaccinul "necreștin", pentru că e de origine animală. Au fost suspiciuni despre eficacitatea vaccinului dar o foarte puternică mișcare a fost dictată de potențială încălcare a drepturilor individuale.
- După ce tensiunile s-au amplificat, au fost dezvoltate politici obligatorii de vaccinare. "Vaccination Act" din 1853 a impus vaccinarea obligatorie a copiilor până la 3 luni iar cel din 1867 a extins-o până la 14 ani. Ca rezultat, au apărut forme de protest ca "Anti Vaccination League" sau "Anti-Compulsory Vaccination League".



Un copac otrăvit ca metaforă pentru efectele vaccinării variolice așa cum au fost văzute de către campaniile anti-vaccinare la începutul anilor 1900.  
- The Historical Medical Library of The College of Physicians of Philadelphia



ELSEVIER

*Vaccine*, Vol. 15, No. 12/13, pp. 1358–1363, 1997  
© 1997 Published by Elsevier Science Ltd. All rights reserved  
Printed in Great Britain  
0264–410X/97 \$17+0.00

PII: S0264-410X(97)00053-4

## A systematic method for evaluating the potential viability of local vaccine producers

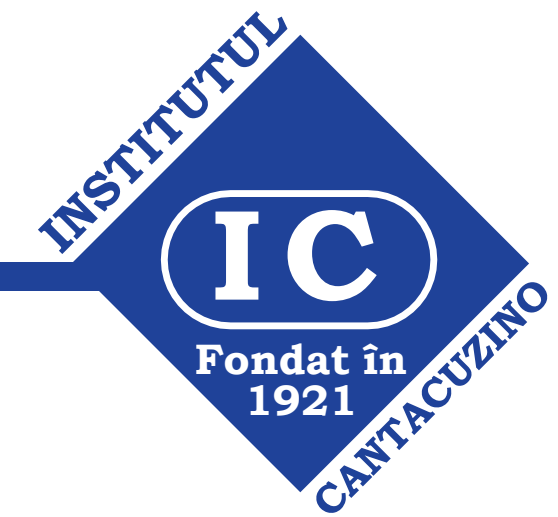
J. Milstien\*‡, A. Batson\* and W. Meaney†

*Vaccine production exists in >55 countries, but many production facilities cannot assure a reliable supply of existing or new vaccines. By analysing the characteristics of successful producers, we have identified seven critical elements for viability, each defined by several indicators. Each indicated weakness implies an investment to correct it. Thirty-one manufacturers were assessed based on these viability indicators and the implied investment costs. Three general groupings were found. 'Viable' producers scored well in all seven categories. Those with a 'low probability' of viability are weak in all areas. Facilities regarded as 'potentially viable' may produce sufficient vaccine to meet national needs, but must develop appropriate structures to effectively manage change. This analysis provides a logical system for governments and donors to evaluate the potential effectiveness of further investment in local vaccine production. © 1997 Published by Elsevier Science Ltd.*

**Keywords:** vaccine production, new vaccines, technology transfer



## Criterii economice e rentabilitate a producției de vaccin

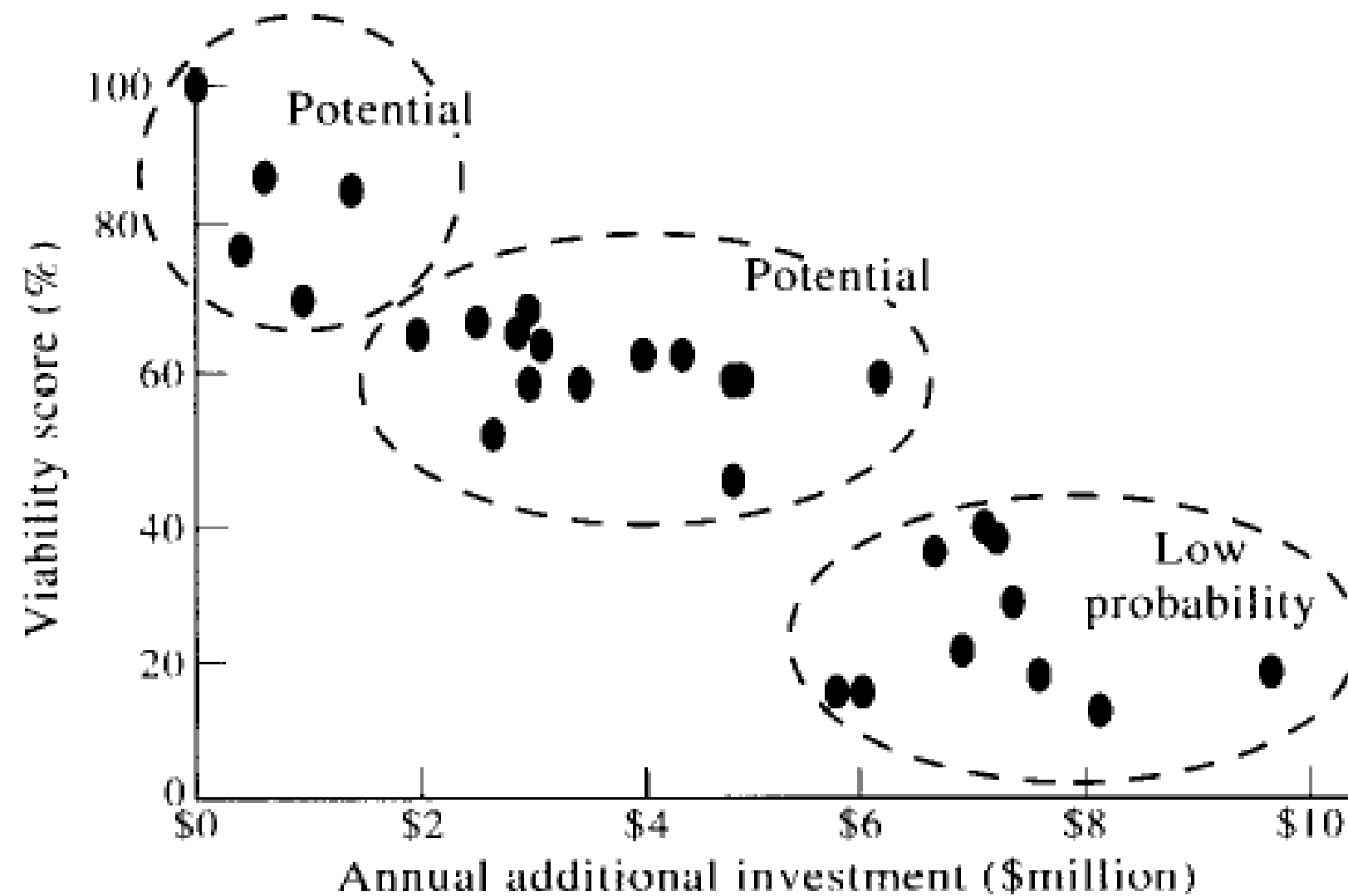


- Pe baza caracteristicilor producătorilor de succes au identificat șapte elemente critice pentru viabilitate:
- 1. Economice - volum și portofoliu de produse în relație cu numărul de locuitori ținta (cu prag la 50 milioane de locuitori)
- 2. Condițiile de bună practică în fabricație (BPF/GMP) și coerența producției;
- 3. Capacitatea istorică și condițiile existente pentru a accesa noile tehnologii;
- 4. Performanța istorică, capacitatea de a satisface cererea și a mări producția;
- 5. Credibilitatea asupra calității și competența agențiilor naționale de reglementare (ANM-DM în cazul nostru);
- 6. Structura managementului;
- 7. Statut juridic, autonomie adecvată.

Milstien J. Batson A. & Meaney W.(1997) identified seven critical elements for viability of local vaccine manufacturers in *Vaccine* Vol. 15, No. 12/13 pp. 1358-1363

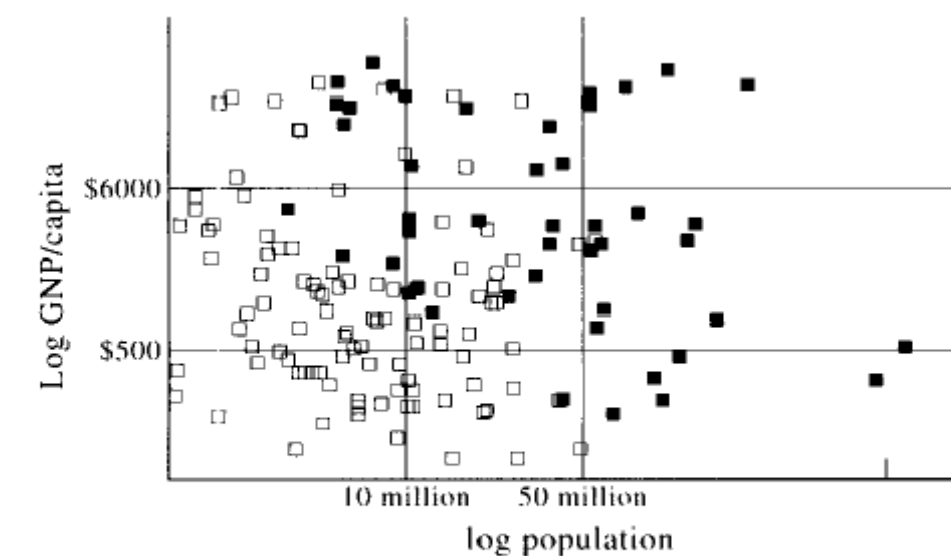


# Criterii economice e rentabilitate a producției de vaccin



**Figure 2** National production viability: facilities were graded on per cent of critical elements achieved and the annual investment needed to address gaps

Pe baza caracteristicilor identificate au fost analizate potențialul în relația cu capacitate investițională și numărul de locuitori



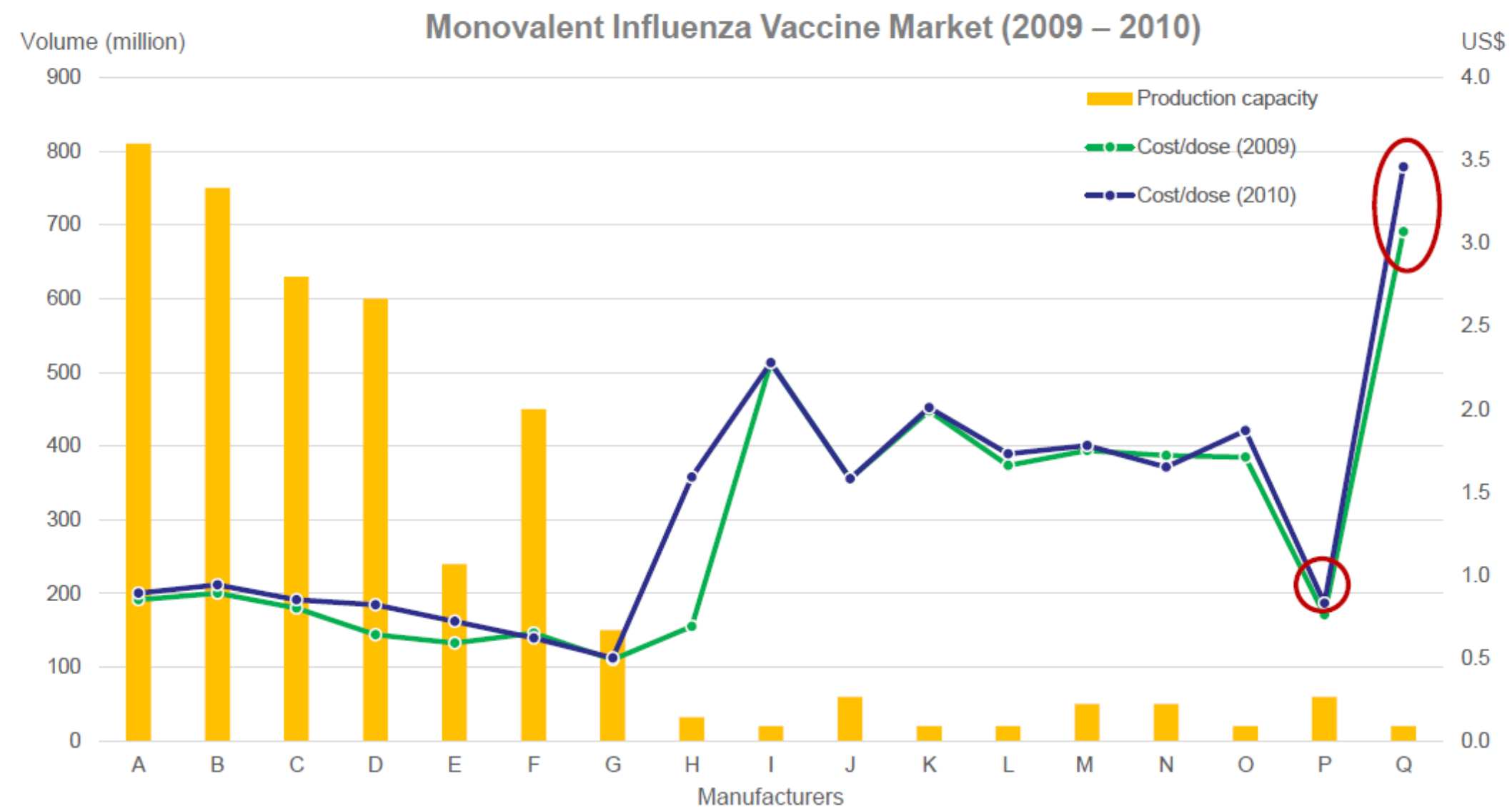
**Figure 1** Countries of the world plotted as a function of population and GNP/capita. Those with national vaccine production are shaded



# Criteria economice e rentabilitate a producției de vaccin



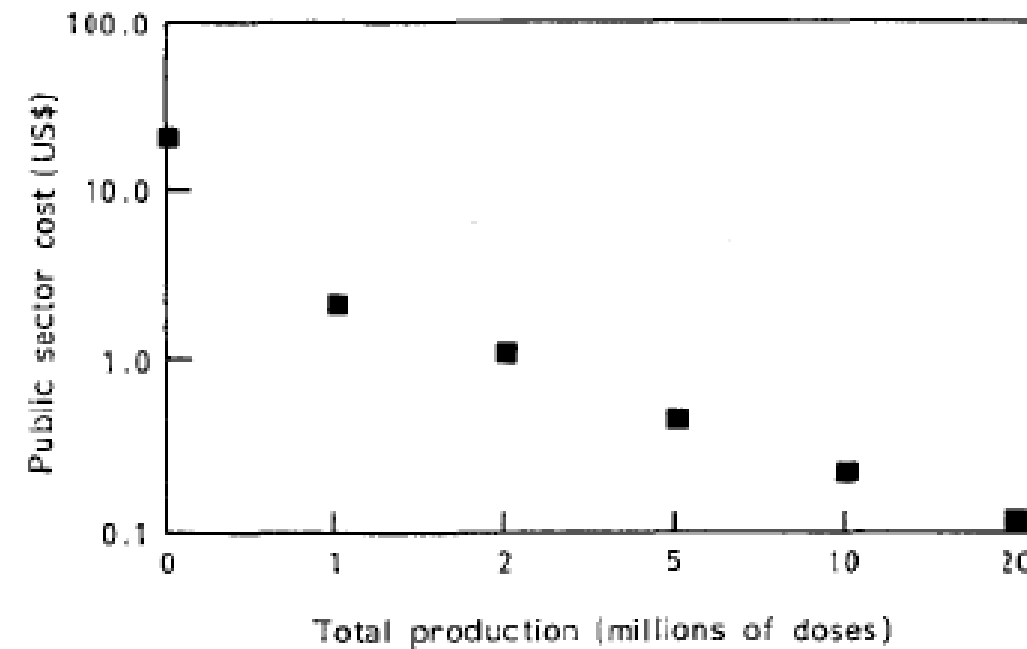
## Production cost per 15ug Antigen for monovalent influenza vaccine appear strongly linked to size of manufacturing capacity



Sursa: [www.who.int/phi/DAY2\\_02\\_Munira\\_PM\\_SaoPaulo2015.pdf](http://www.who.int/phi/DAY2_02_Munira_PM_SaoPaulo2015.pdf)



# Criterii economice e rentabilitate a producției de vaccin



**Figure 1** Dependence of unit cost (US\$/dose) of vaccine to the public sector on production level (non-linear scale)

**Table 1.**  
Outflows for production of 60 million doses per annum (\$000,000) in 1 and 10 dose vials.

Cost of production	1-dose	10-dose
Direct materials and inputs	20.786	2.91
Direct personnel and labor	5.092	2.55
Indirect costs (Factory overheads and Administrative overheads)	11.28	2.34
Total costs of production	37.158	7.79
Depreciation	4.07	4.07
Total outflow	41.67	11.86
Outflow/dose (\$)	0.69	0.19

Mahoney RT.  
Vaccine. 1990 Aug;8(4):397-401.

Mahoney RT, Francis DP, Frazatti-Gallina NM, Precioso AR, Raw I, Watler P, Whitehead P, Whitehead SS.

Vaccine. 2012 Jul 6;30(32):4892-6. doi: 10.1016/j.vaccine.2012.02.064. Epub 2012 Mar 8.

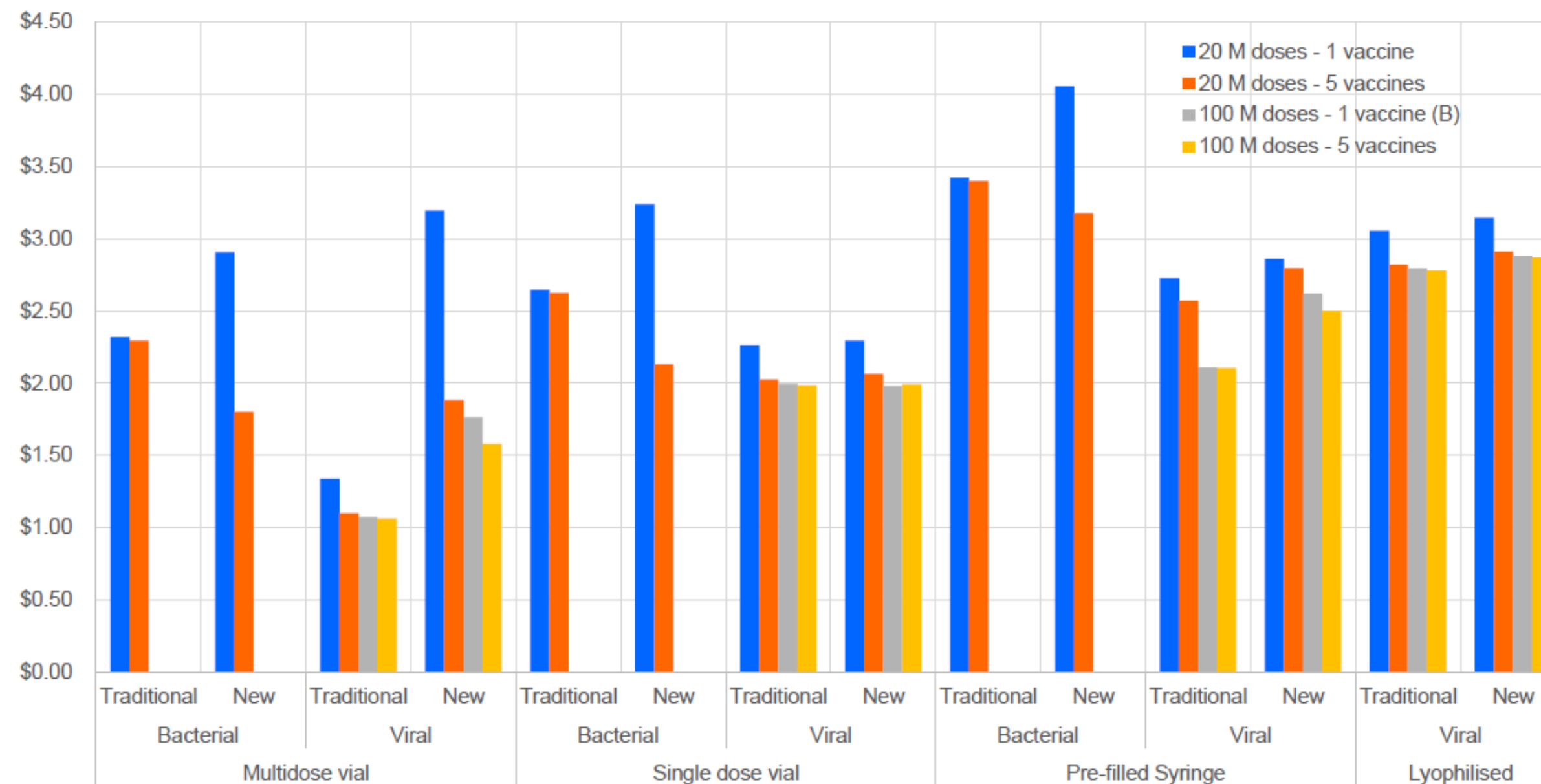




# Criteria economice e rentabilitate a producției de vaccin



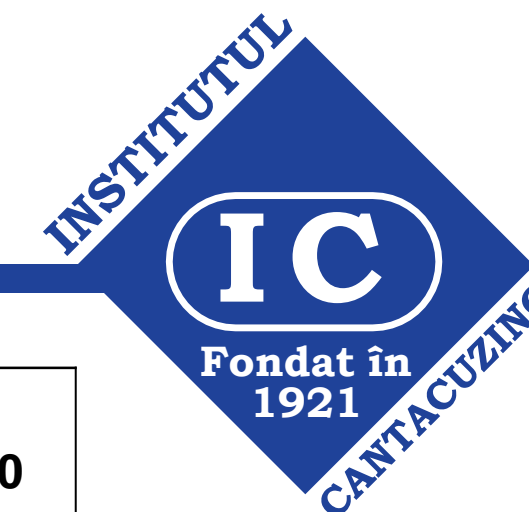
## Preliminary Results: Vaccine production cost per dose (average)



Sursa: [www.who.int/phi/DAY2\\_02\\_Munira\\_PM\\_SaoPaulo2015.pdf](http://www.who.int/phi/DAY2_02_Munira_PM_SaoPaulo2015.pdf)



# Necesarul de spații și costul lor



## 3.3.2 Production Plant Building “B”

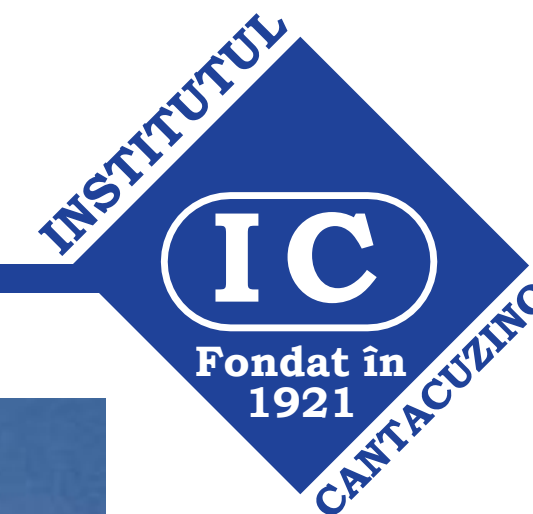
- Total Height: 15,00m (10,00m over ground)
- 3 Levels
- Height Basement: 5m brutto
- Height Level 1: 5m brutto
- Height Level 2: 5m brutto
- Total Area (incl. corridor): 8400 m<sup>2</sup>
  - Basement Waste Treatment, Technical Utilities 2620m<sup>2</sup>
  - Level 1 Process and Communication: 2460m<sup>2</sup>
  - Level 1 Common Corridor + Offices: 650 m<sup>2</sup>
  - Level 2 Process, Technical and Communication: 2670 m<sup>2</sup>

<u>Items</u>	<b>€ x 1.000</b>
Process Equipment	11.469
Building Landscaping	8.164
HVAC	3.348
Infrastructure / Utilities	6.487
Electrical	2.833
Furniture	223
<b>Subtotal</b>	<b>32.524</b>
Design	3.611
Turnkey Project & Construction Management	3.640
Validation	1.722
Contingency	2.716
<b>Subtotal</b>	<b>11.689</b>
<b>Total</b>	<b><u>44.213</u></b>

Studiu 2006/2007



## Model facilitate vaccin



Studiu 2006/2007



## Dezvoltarea de vaccin de urgență

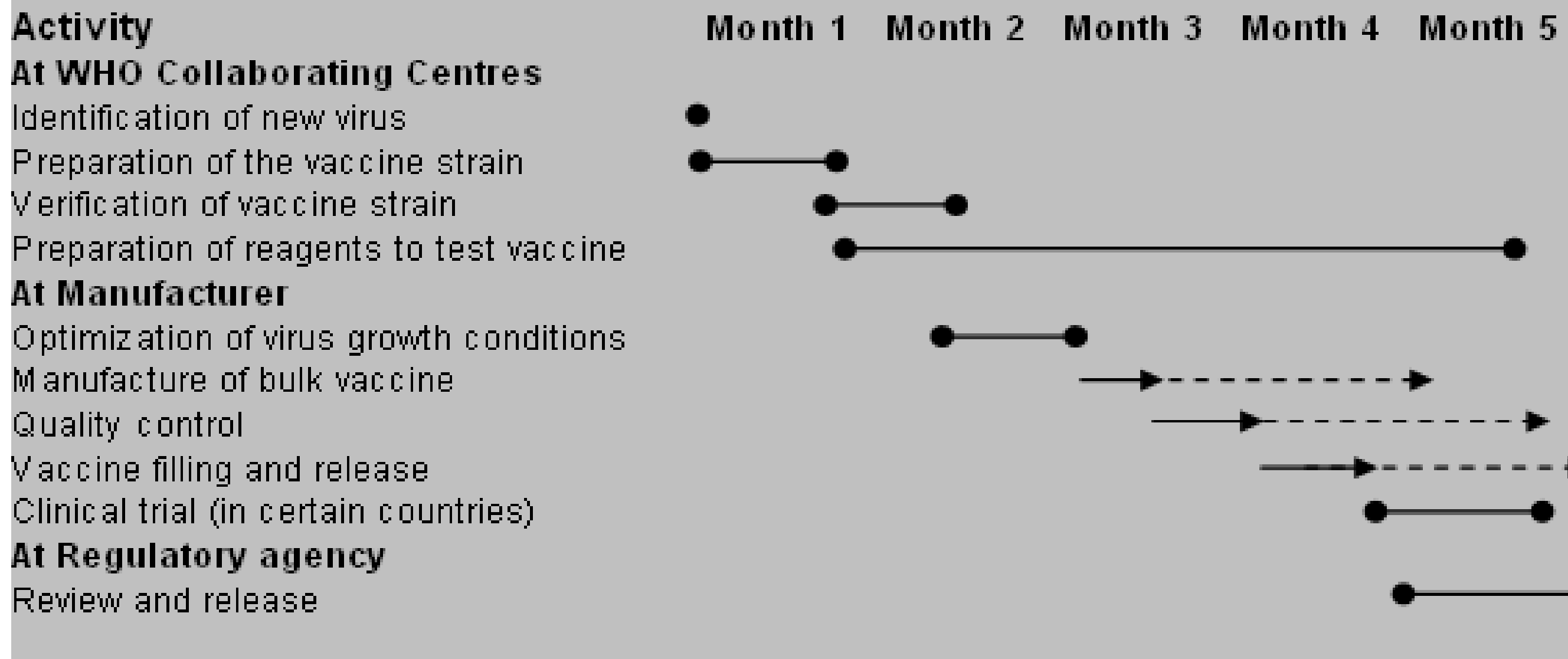
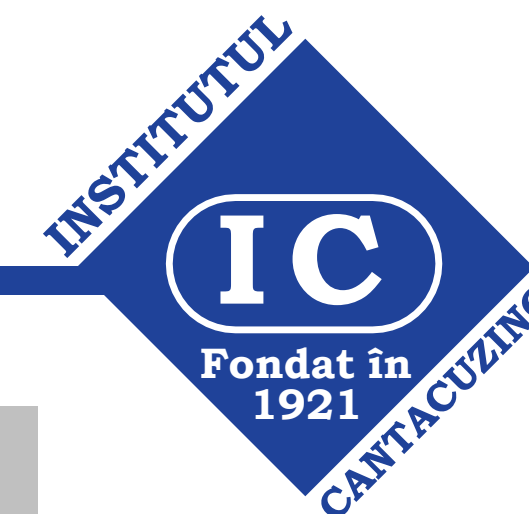


- Dezvoltarea de vaccin de urgență constă într-o gamă complexă de activități care acoperă diferite domenii ale cercetării biomedicale, de la microbiologie și imunologie la biotehnologie și farmacologie.





# Timpul necesar dezvoltării de vaccin pandemic gripal

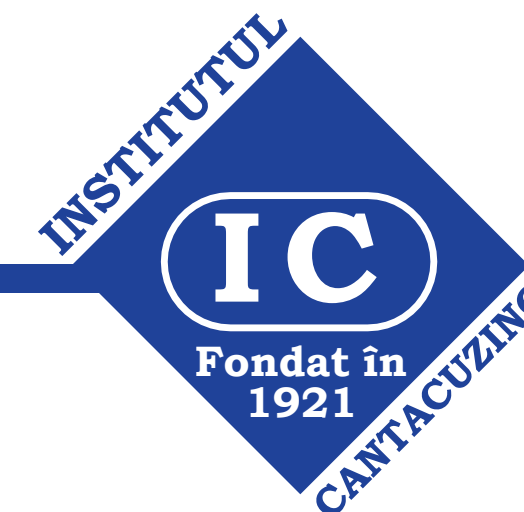


Este nevoie de aproximativ cinci până la șase luni pentru primele livrări de vaccin după ce o noua tulpina de virus gripal cu potențial pandemic este identificată și izolată. Aceste luni sunt necesare deoarece procesul de producere a unui nou vaccin implică mai multe etape consecutive și fiecare dintre aceste etape necesită o anumită perioadă de timp pentru a o finaliza.

[http://www.who.int/csr/disease/swineflu/notes/h1n1\\_vaccine\\_20090806/en/](http://www.who.int/csr/disease/swineflu/notes/h1n1_vaccine_20090806/en/)



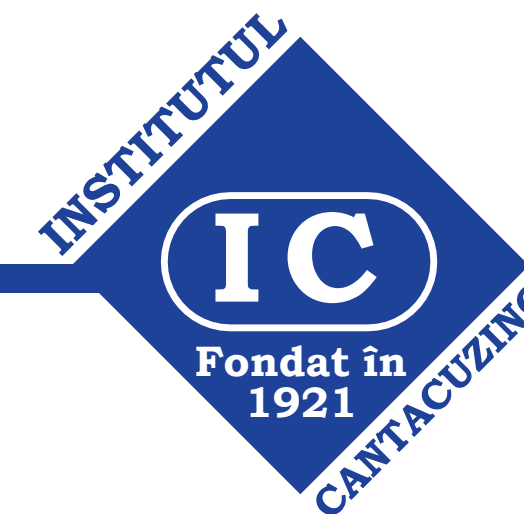
## Core pandemic dossier



- Procedura presupune prezentarea și aprobarea unui dosar cadru pentru vaccinul pandemic “core pandemic dossier” în timpul perioadei inter-pandemice, care se bazează pe un model de vaccin “mock-up vaccine”.
- Odată ce o pandemie este declarată, procedura permite aprobarea rapidă a unei variații care poate fi necesară pentru a înlocui virusul din vaccin cu cel pandemic.
- Depunerea cererilor de autorizare pentru vaccinurile pandemice se face în procedura centralizată, structura dosarului fiind prezentată în ghiduri dedicate ale Agenției Europene a Medicamentului „Guideline on dossier structure and content for Pandemic Influenza Vaccine Marketing Authorisation Application - EMEA/CPMP/VEG/4717/2003” existând ghiduri privind procedura de aprobare rapidă precum Ghidul de depunere a cererilor autorizației de punere pe piață de vaccin gripal pandemic prin procedura centralizată (CPMP/VEG/4986/03).



## Criterii de evaluare vaccin gripal

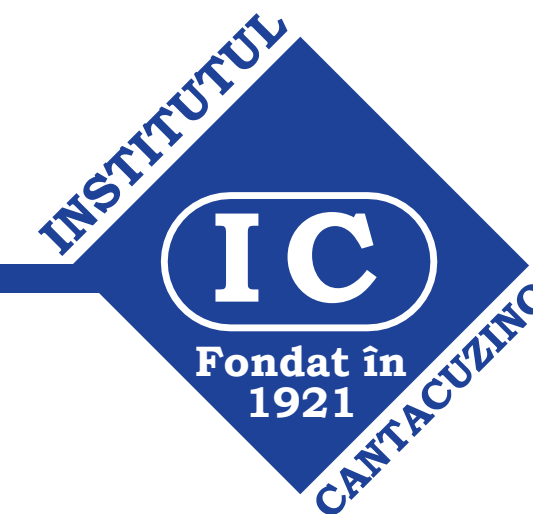


- Creșterea MGT (media geometrică a titrului) ar trebui să fie  $> 2,5$   
sau
- Seroconversia ar trebui să fie  $> 40\%$   
sau
- THI (titrul hemaglutinoinhibant)  $> 40$  ar trebui să fie la  $> 70\%$  dintre subiecți

**Pentru vaccinul pandemic ar trebui să fie îndeplinite toate criteriile simultan**



## Lecția din 2009

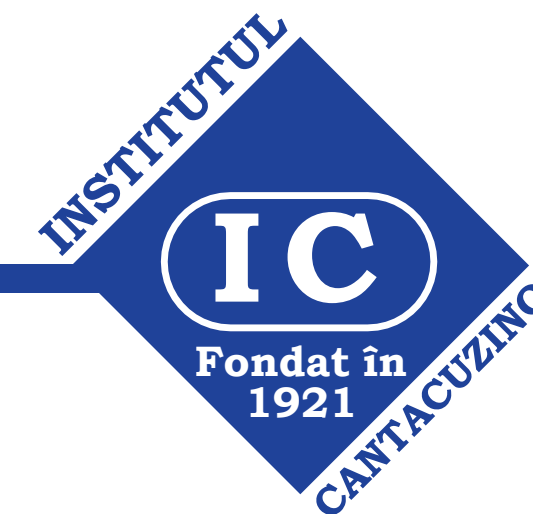


- 11 iulie 2009 orele 18.00 Directorul General OMS, Dr. Margaret Chan declara trecerea în faza 6 a pandemiei de gripă.
- Pandemia de gripă este o epidemie la nivel planetar, determinată de un nou subtip de virus gripal A, față de care populațiile nu au imunitate prin infecții naturale sau vaccinări anterioare.





## Lecția din 2009



- Primele studii au fost orientate pe dezvoltarea unui vaccin pentru gripa aviara dar odată cu iulie 2009 și declararea pandemiei de gripă, rezultatele și experiența dobândită au fost folosite pentru producerea vaccinului pandemic A H1N1



## Lecția din 2009

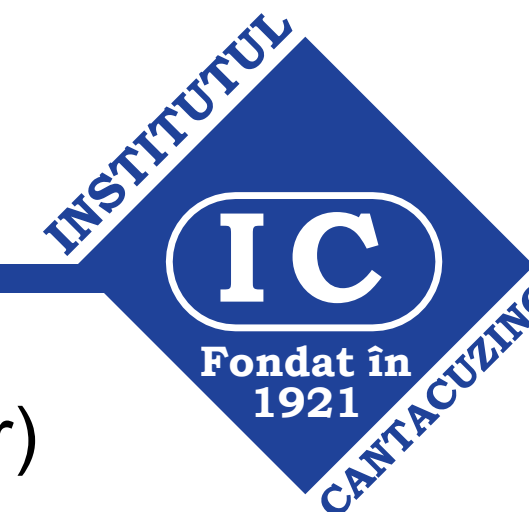


Grant OMS pentru dezvoltarea producției de vaccin gripal

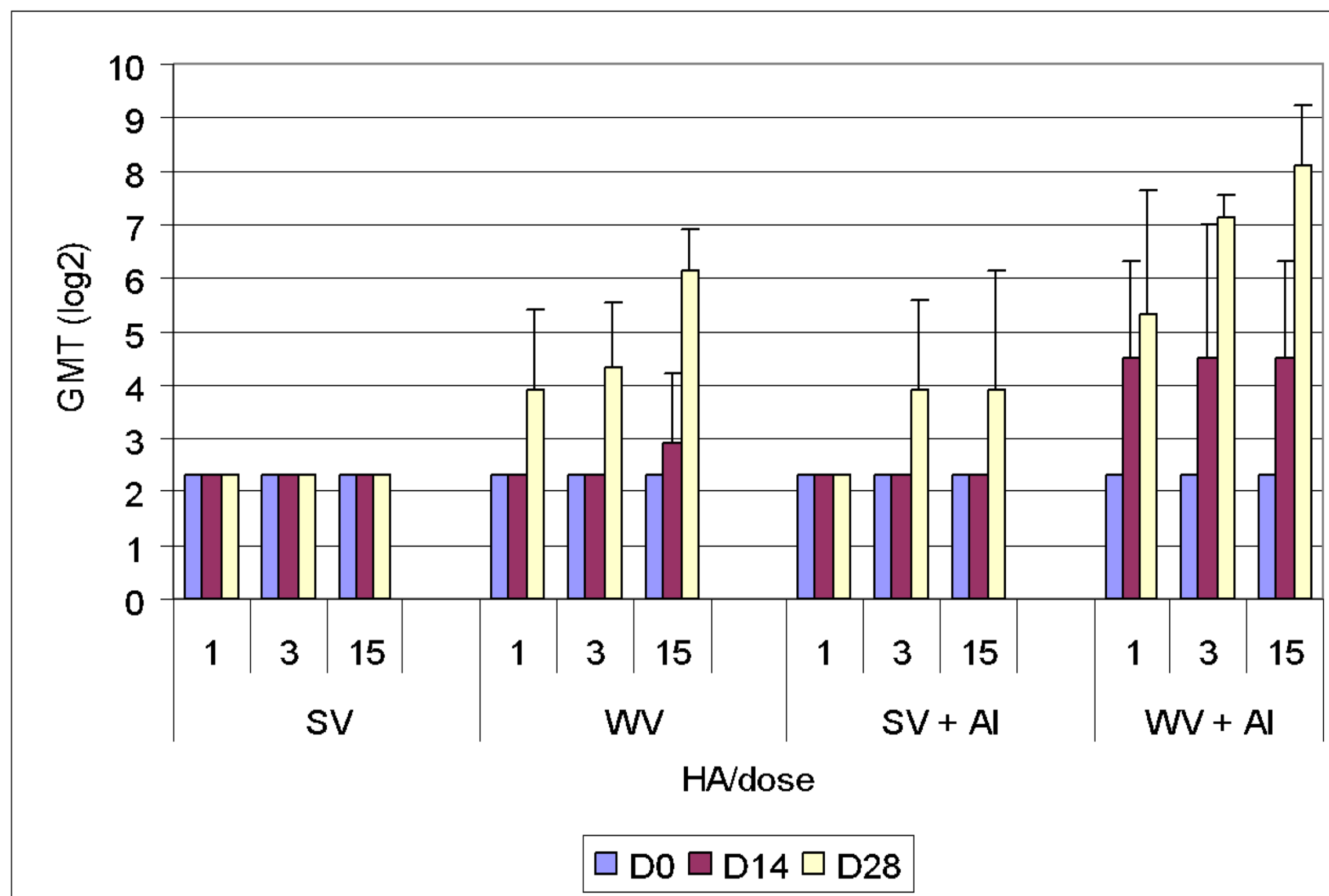
- Obiectiv general
  - Pentru a asigura consolidarea capacităților naționale pentru vaccin gripal pandemic și crearea unui potențial pentru distribuția de vaccin pandemic în țările vecine, prin înregistrarea în conformitate cu cerințele EMEA (EMA).
- Obiective specifice
  - Optimizarea producției de vaccin gripal
  - Studiile pre-clinice și de imunogenitate și siguranță
  - Studii clinice de Faza I



# Lecția din 2009



Răspuns imun administrare i.m. NIBRG – 14 (tulpină derivată din virusul aviar)





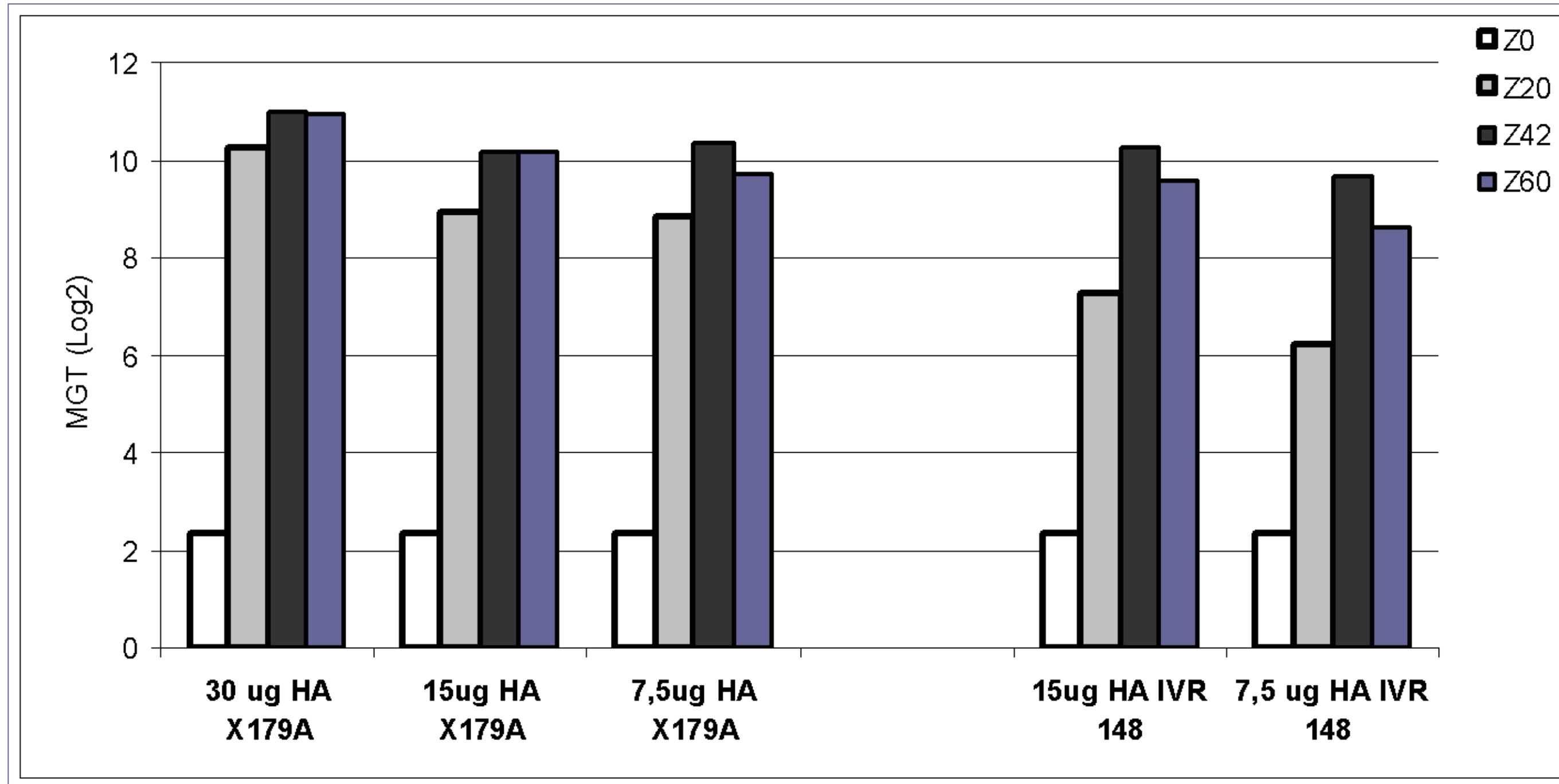
# Lecția din 2009 - Reasortanți făcuți in proiectul FLUSECURE



Combating FLU in a combined action between industry and the public sector in order to SECURE adequate and fast interventions in Europe [FLUSECURE] [2005207] - Project

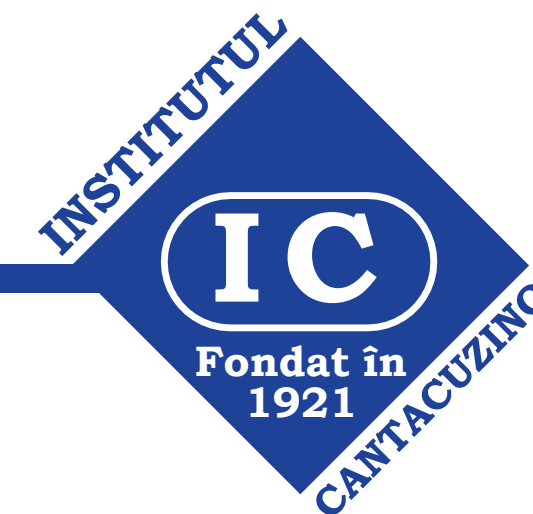


# Lecția din 2009 - Răspunsul în anticorpi HI al șoarecilor imunizați i.m. cu virus fragmentat X179A și IVR 148





## Lecția din 2009 – studiu nonclinic



Vaccinul gripal pandemic Cantgrip cu concentrație de 15 ugHA/doză asigură seroprotecția și seroconversia după o singură doză.

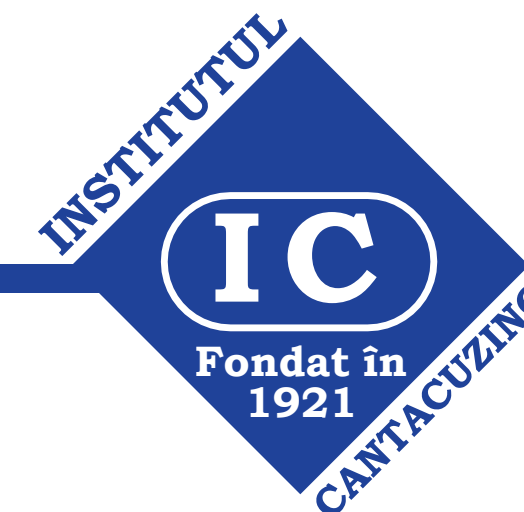
- În cazul vaccinului trivalent sezonier, seroconversia și seroprotecția după o doză vaccinală variază în funcție de tulpina vaccinală.

Administrarea celei de a doua doze determină:

- augmentarea titrurilor seroprotectoare pentru Cantgrip
- creșterea titrurilor seroprotectoare pentru componentele vaccinului gripal trivalent sezonier
- Nu au fost înregistrate semne și simptome clinice de suferință a animalelor pe durata de monitorizare din cadrul experimentului.



## Lecția din 2009 - Studiu clinic



Studiu clinic național de fază I privind evaluarea imunogenității între vaccinul pandemic și vaccinul gripal sezonier preparat pentru sezonul 2009-2010

- evaluarea imunogenității vaccinului pandemic Cantgrip și a vaccinului gripal sezonier, la adulți și copii;
- urmărirea nivelului anticorpilor specifici pe termen mediu (6 luni postvaccinare);
- evaluarea reactogenității

### Grupele de vârstă

- două grupe de vârstă la adulți: 18-60 ani (N = 70) și peste 61 ani (N = 61), 10.10.09
- copii în vârstă de 10-17 ani (N = 50). 20.12.09
- Vaccinul trivalent preparat pentru sezonul 2009-2010: grupe de vârstă similare, 70 subiecți din grupa 18-60 ani, 62 din grupa de cel puțin 61 ani și 42 copii 10-17 ani .

### Începutul studiilor:

- 13.10.2009 - adulți,
- 20.12.09 - copii



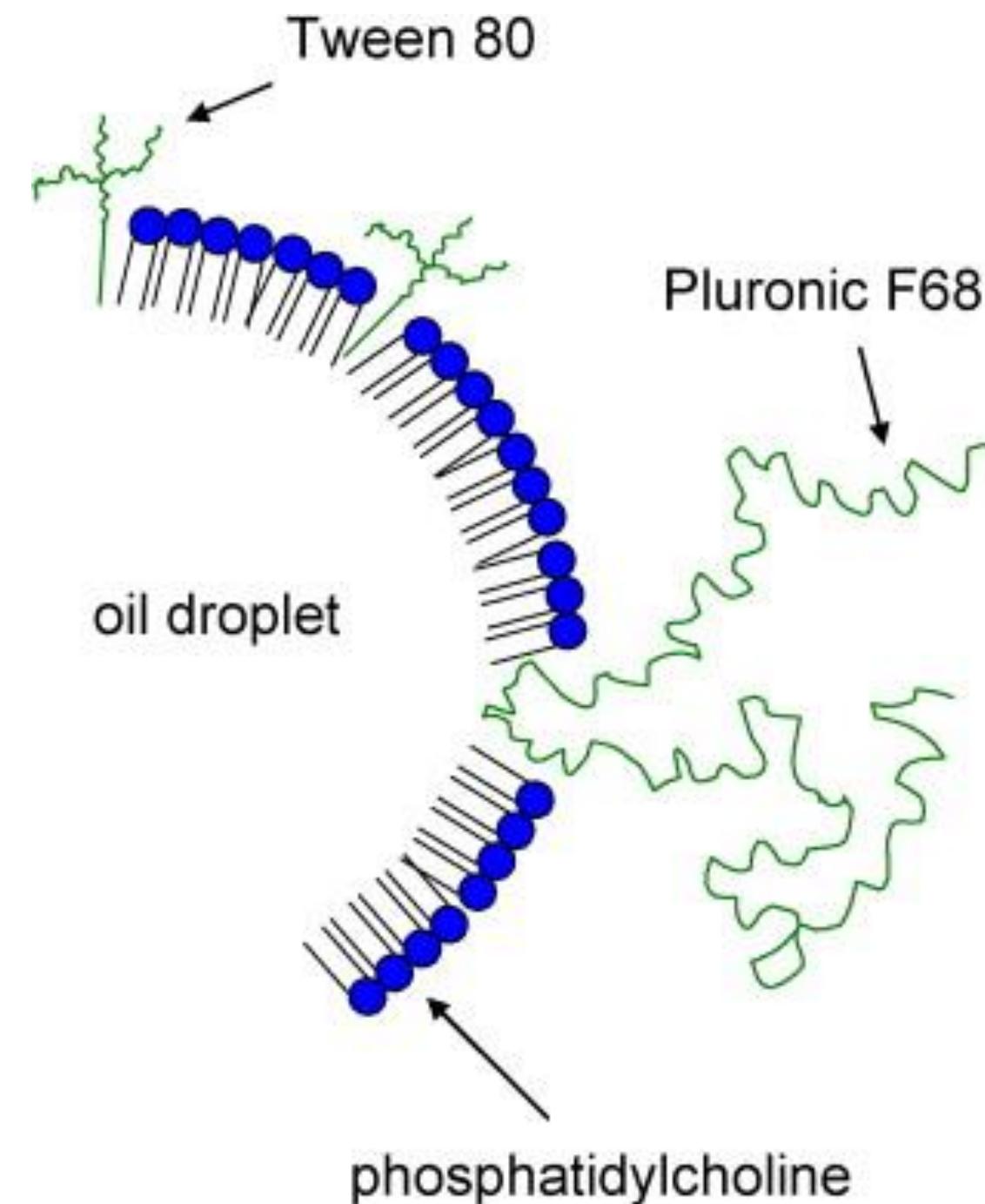
## Lecția din 2009 – Limitări și soluții



Cea mai mare problemă este disponibilitatea limitată a antigenului în situații de urgență .

Aceasta este și mai severă dacă antigenul este un slab imunogen. Din fericire, în pandemia din 2009 antigenul a fost suficient de imunogenic.

Dacă nu, sistemul imunitar poate fi "ajutat" de adjuvant. Ceea ce este folosit uzual în dezvoltarea de vaccin gripal este adjuvantul de tip „ulei în apă”.



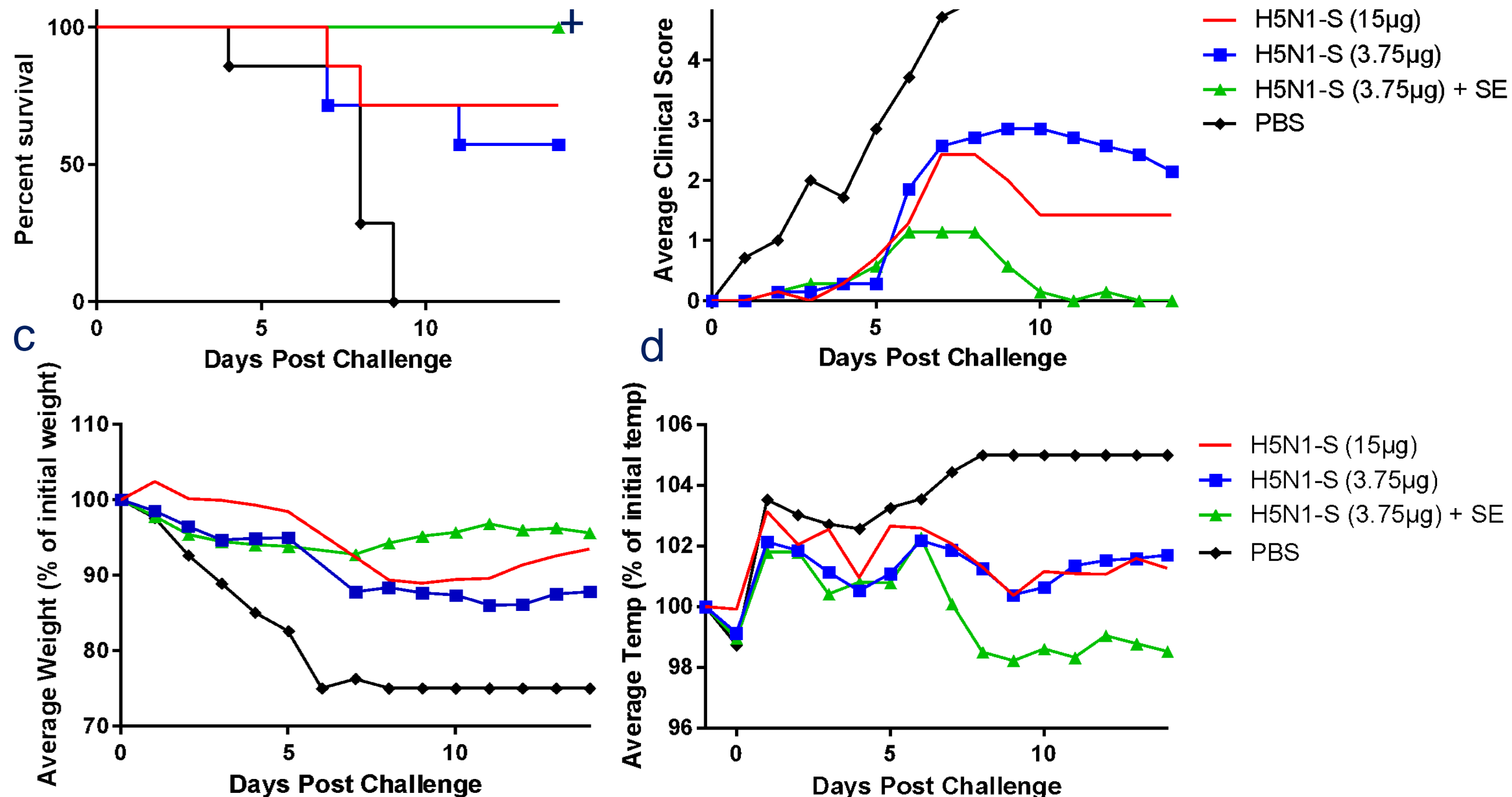




# Lecția din 2009 – Limitări și soluții



Dihorii imunizați cu H5N1, cu adjuvant fabricat de Sanofi (H5N1-S) demonstrează o protecție îmbunătățită. (A) procentul de supraviețuire după provocare. (B) scor clinic mediu pentru fiecare grup de dihori : 0 = normal; 1 letargie = ușoară; 2 = activitate redusă; 3 = letargic; 4 = boală severă, muribund (eutanasiați); 5 = găsit mort. (C) pierderea medie a greutății corporale în comparație cu ziua 0 (D) media temperaturii corpului în comparație cu o ziua de înainte de provocare.



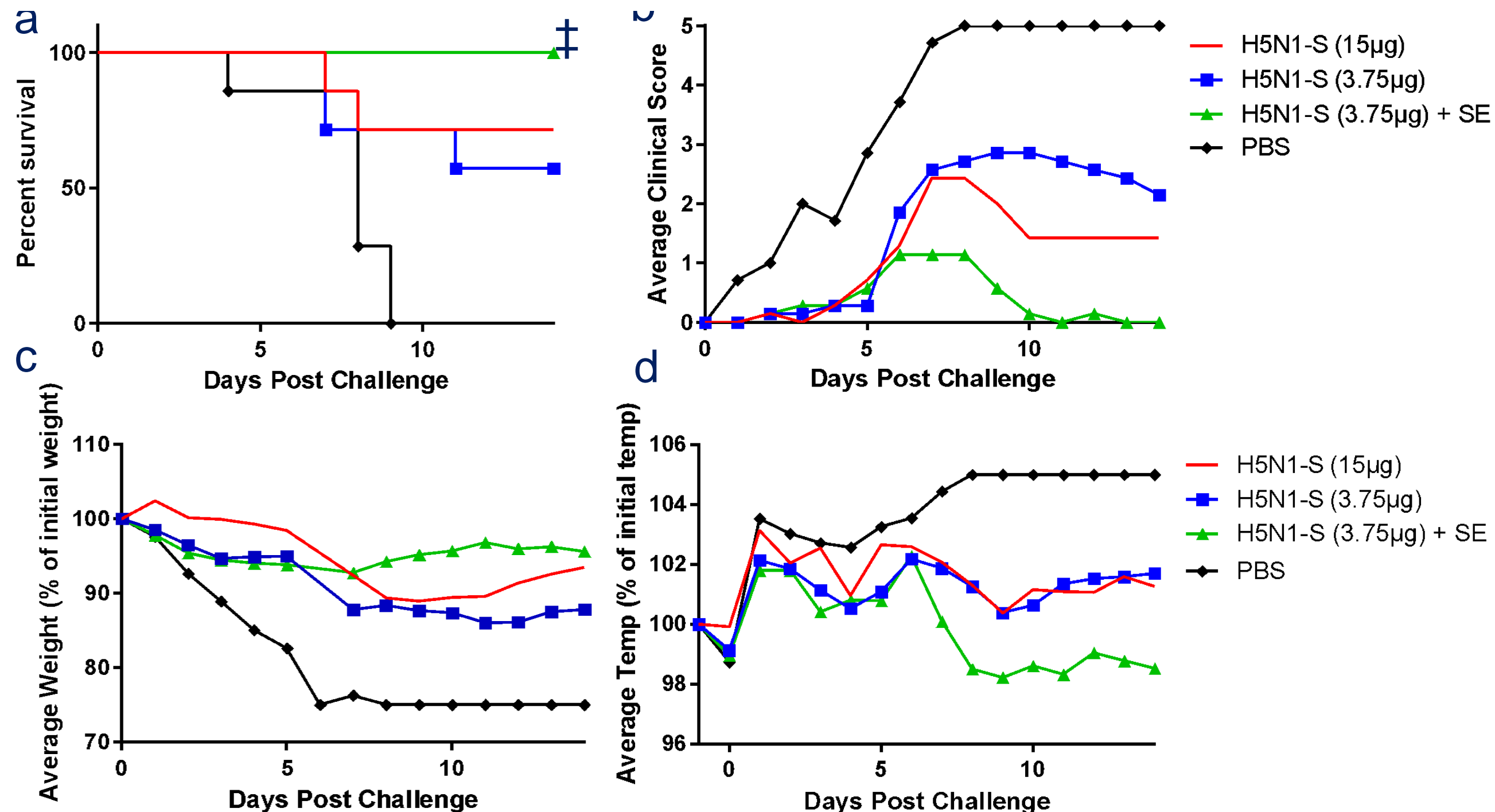
Crina Stavaru, Adrian Onu, Emilia Lupulescu, Catalin Tucureanu, Orhan Rasid, Ene Vlase, Cristin Coman, Iuliana Caras, Alina Ghiorghisor, Laurentiu Berbecila, Vlad Tofan, Richard A. Bowen, Nicole Marlenee, Airn Hartwig, Helle Bielefeldt-Ohmann, Susan L. Baldwin, Neal Van Hoeven, Thomas S. Vedvick, Chuong Huynh, Michael K. O'Hara, Diana L. Noah & Christopher B. Fox (2015): Technology Transfer of Oil-in-Water Emulsion Adjuvant Manufacturing for Pandemic Influenza Vaccine Production in Romania: Preclinical Evaluation of Split Virion Inactivated H5N1 Vaccine with Adjuvant, *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, DOI: 10.1080/21645515.2015.1111495



## Lecția din 2009 – Limitări și soluții



Dihorii imunizați cu H5N1, cu adjuvant fabricat de Sanofi (H5N1-S) demonstrează o protecție îmbunătățită. (A) procentul de supraviețuire după provocare. (B) scor clinic mediu pentru fiecare grup de dihori : 0 = normal; 1 letargie = ușoară; 2 = activitate redusă; 3 = letargic; 4 = boală severă, muribund (eutanasiați); 5 = găsit mort. (C) pierderea medie a greutatei corporale în comparație cu ziua 0 (D) media temperaturii corpului în comparație cu o ziua de înainte de provocare.



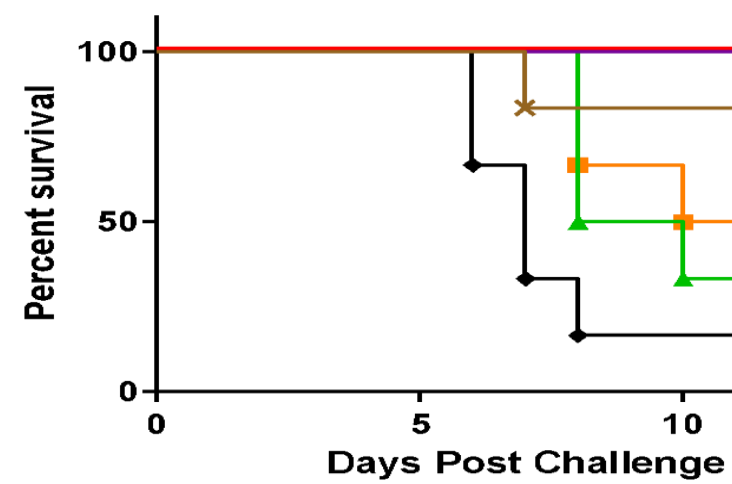


# Lecția din 2009 – Limitări și soluții

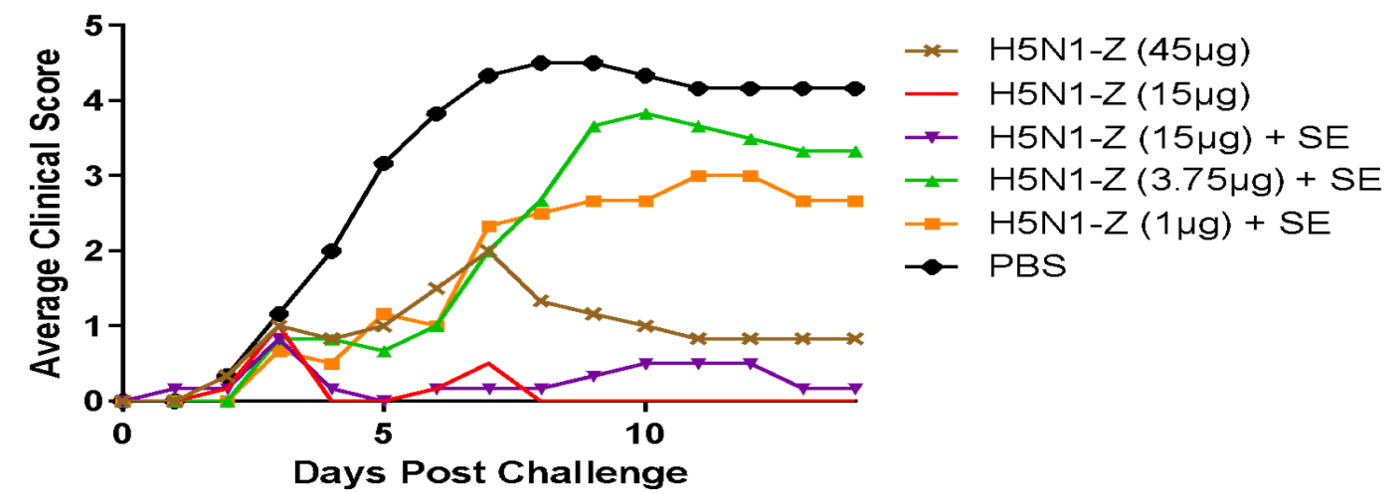


Dihorii imunizați cu H5N1, cu adjuvant fabricat de CI (H5N1-Z) demonstrează răspunsul clinic similar, comparativ cu animalele imunizate fără adjuvant (A) procentul de supraviețuire după provocare. (B) scor clinic mediu pentru fiecare grup de dihori : 0 = normal; 1 letargie = ușoară; 2 = activitate redusă; 3 = letargic; 4 = boală severă, muribund (eutanasiați); 5 = găsit mort. (C) pierderea medie a greutății corporale în comparație cu ziua 0 (D) media temperaturii corpului în comparație cu o zi de înaintea de provocare.

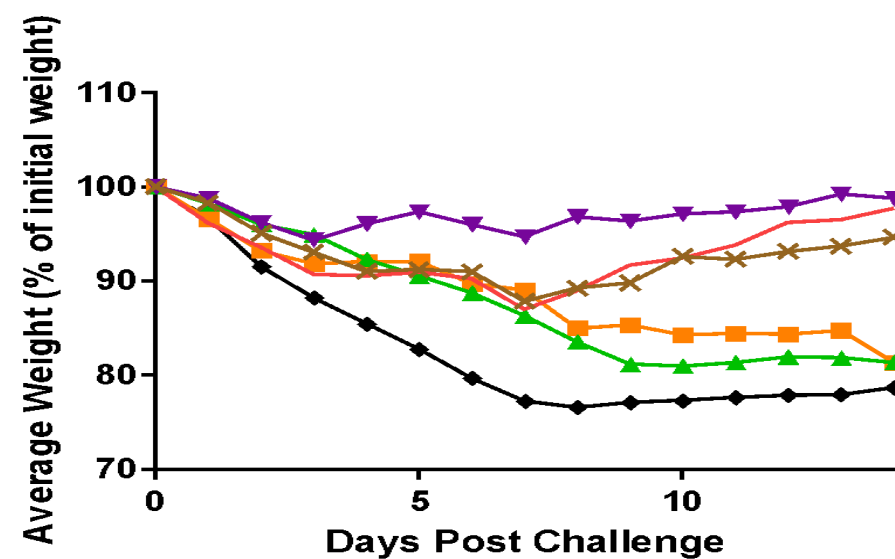
a



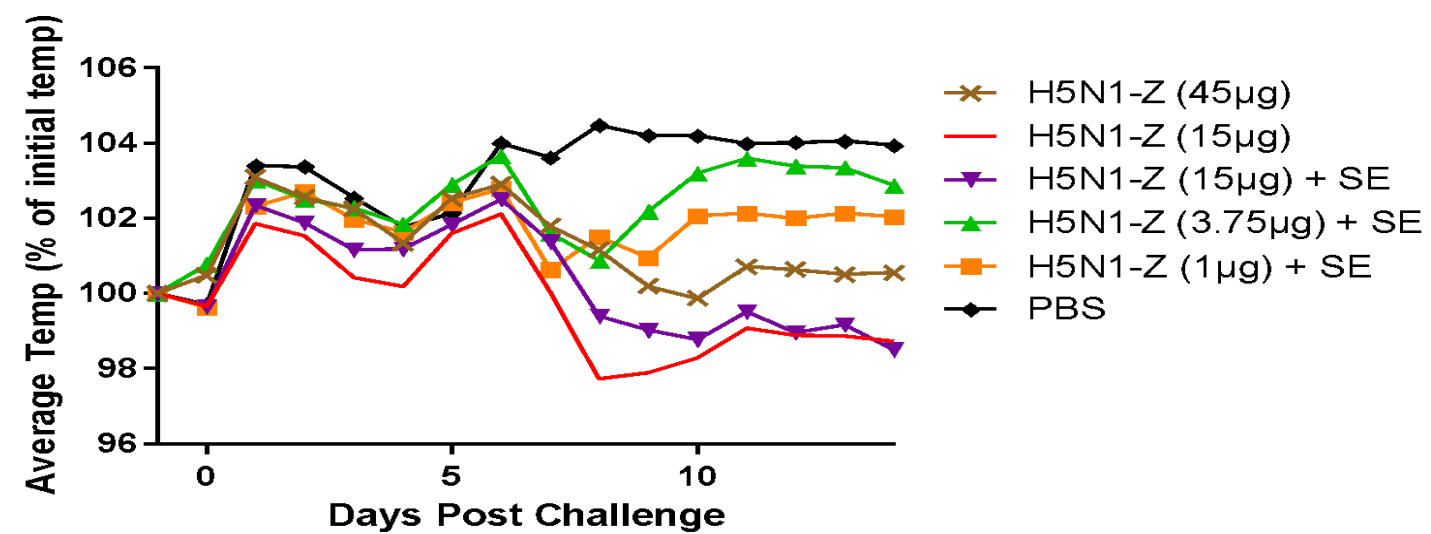
b



c

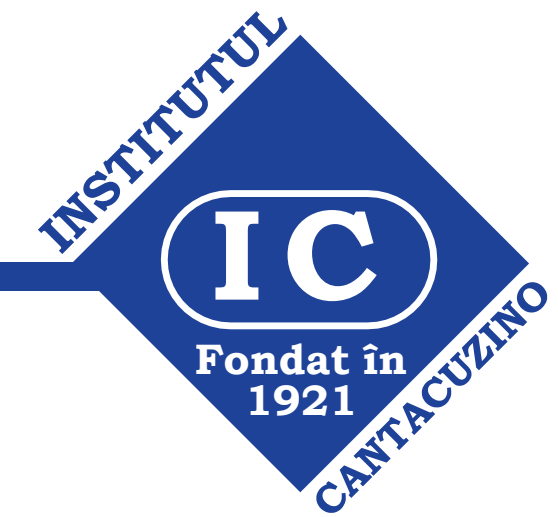


d

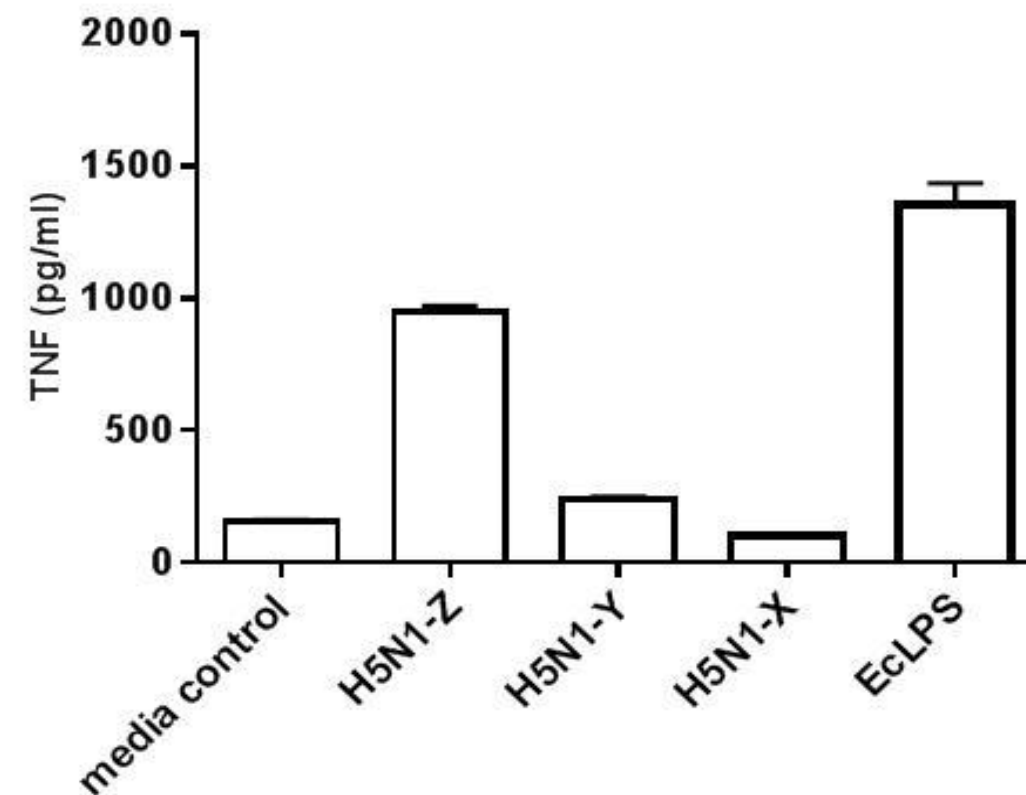




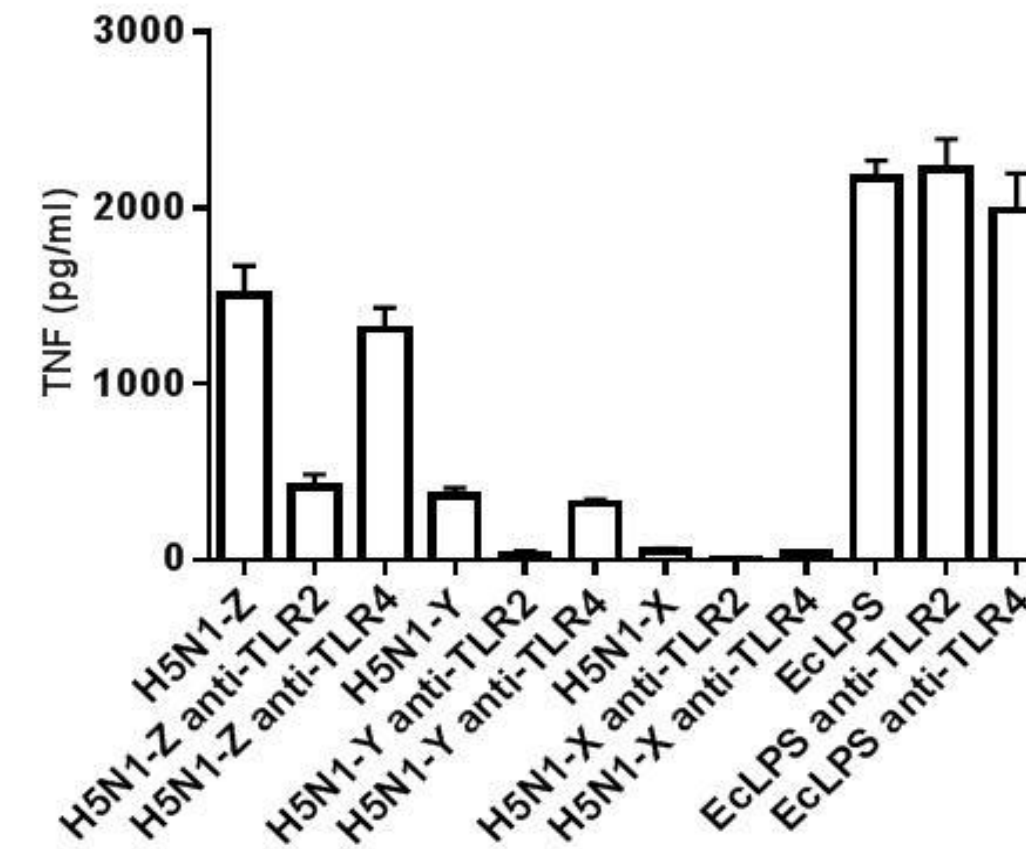
## Lecția din 2009 – Limitări și soluții



a



b



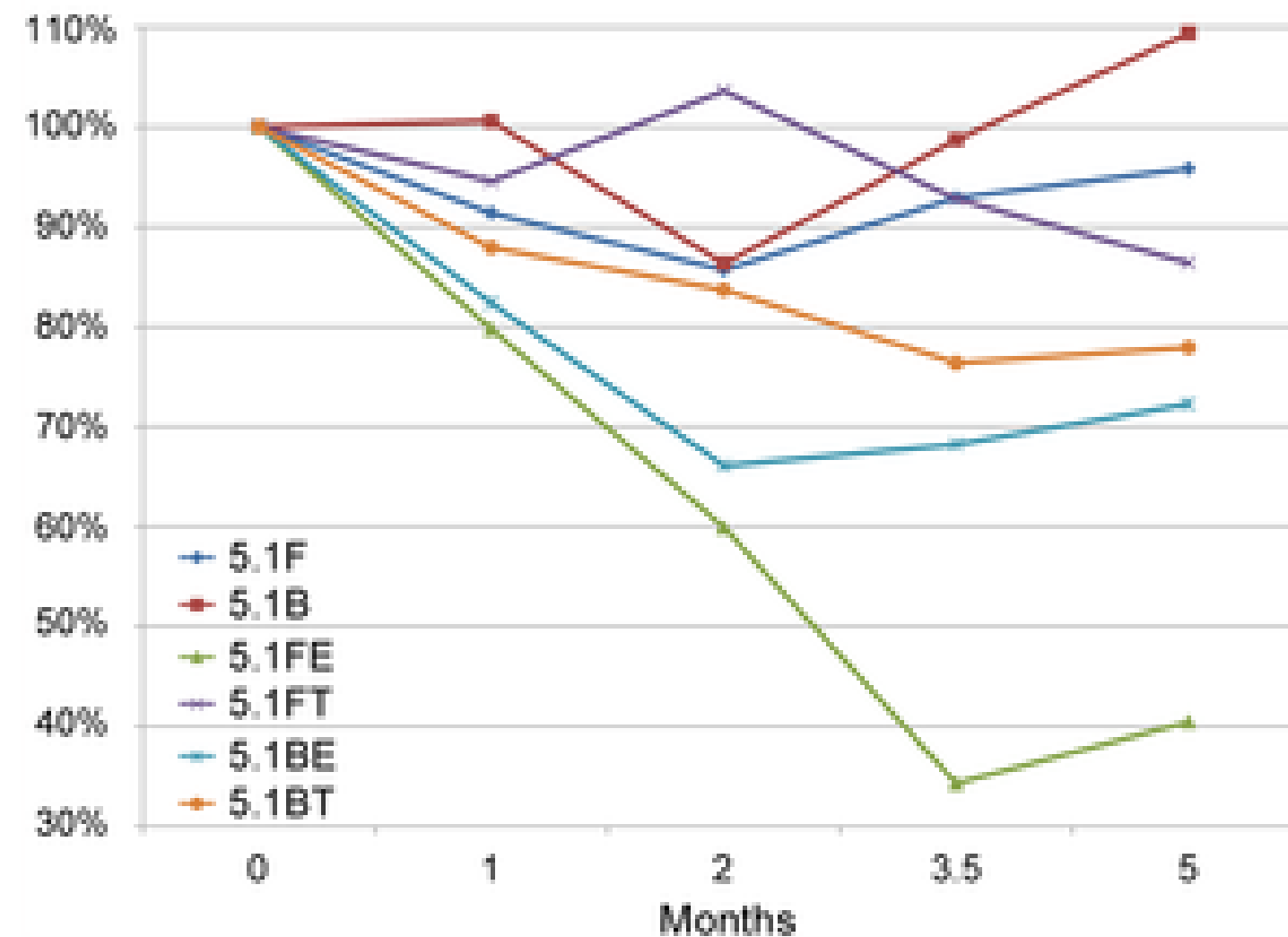
Antigenele fabricate prin diferite procese stimulează celulele THP1 într-o manieră dependentă de TLR2. (a) Producția de TNF din celulele THP1 stimulate cu preparate antigene (6,8  $\mu\text{g/ml}$  HA). Barele reprezintă media și abaterea standard a două probe. (b) Producția de TNF din celulele THP1 stimulate de antigen în prezența anticorpilor care blochează TLR2 sau TLR4. Barele reprezintă media și abaterea standard a trei experimente.



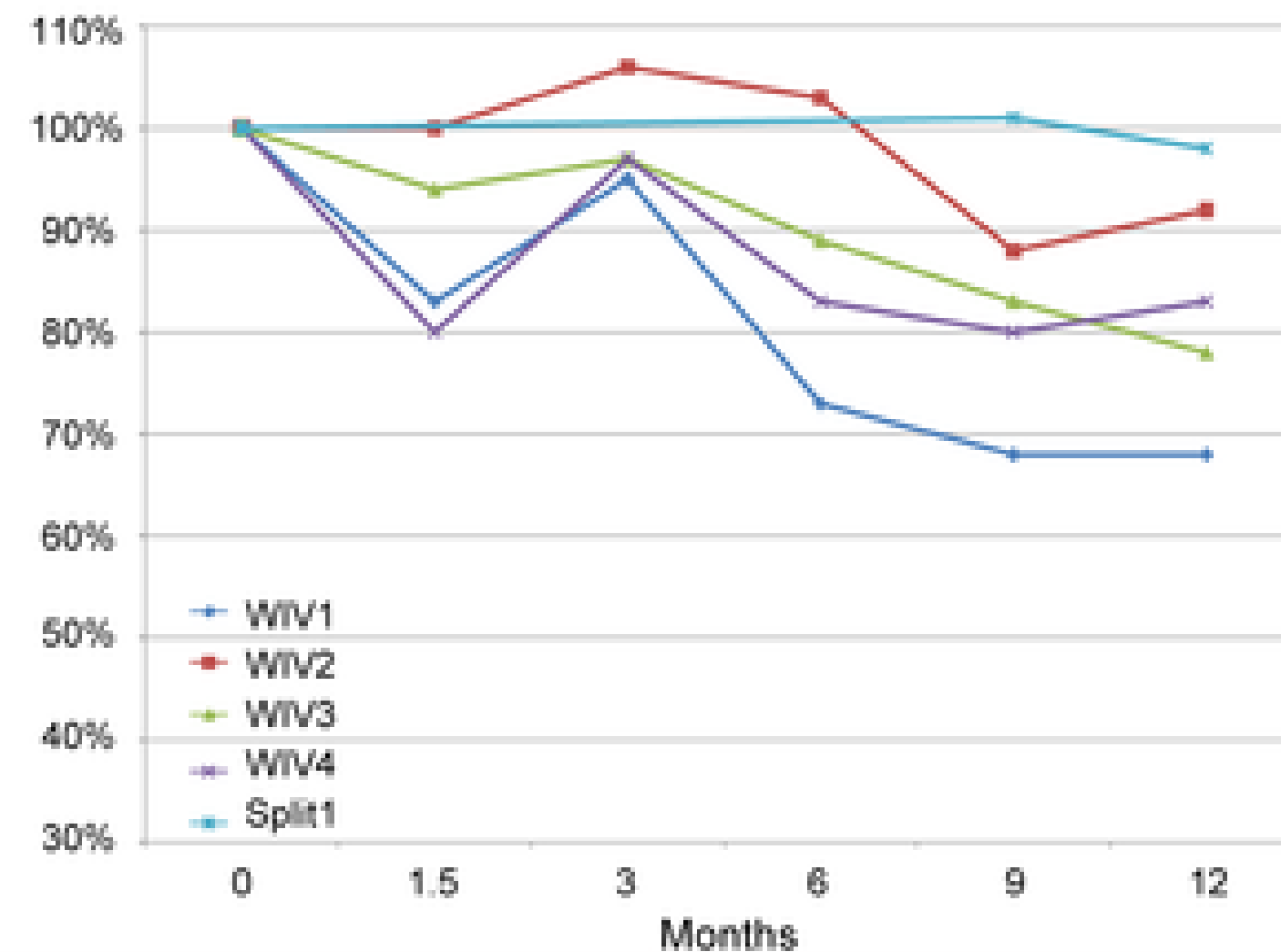
# Stabilitatea produselor vaccin vrac a unor candidați de vaccin, pe baza concentrației de hemaglutinină.



Product stability profile based on HA concentration



HA Stability of BPL WIV products and one Triton split product



Kon TC, Onu A, Berbecila L, Lupulescu E, Ghiorgisor A, et al. (2016) Influenza Vaccine Manufacturing: Effect of Inactivation, Splitting and Site of Manufacturing. Comparison of Influenza Vaccine Production Processes. PLoS ONE 11(3): e0150700. doi:10.1371/journal.pone.0150700



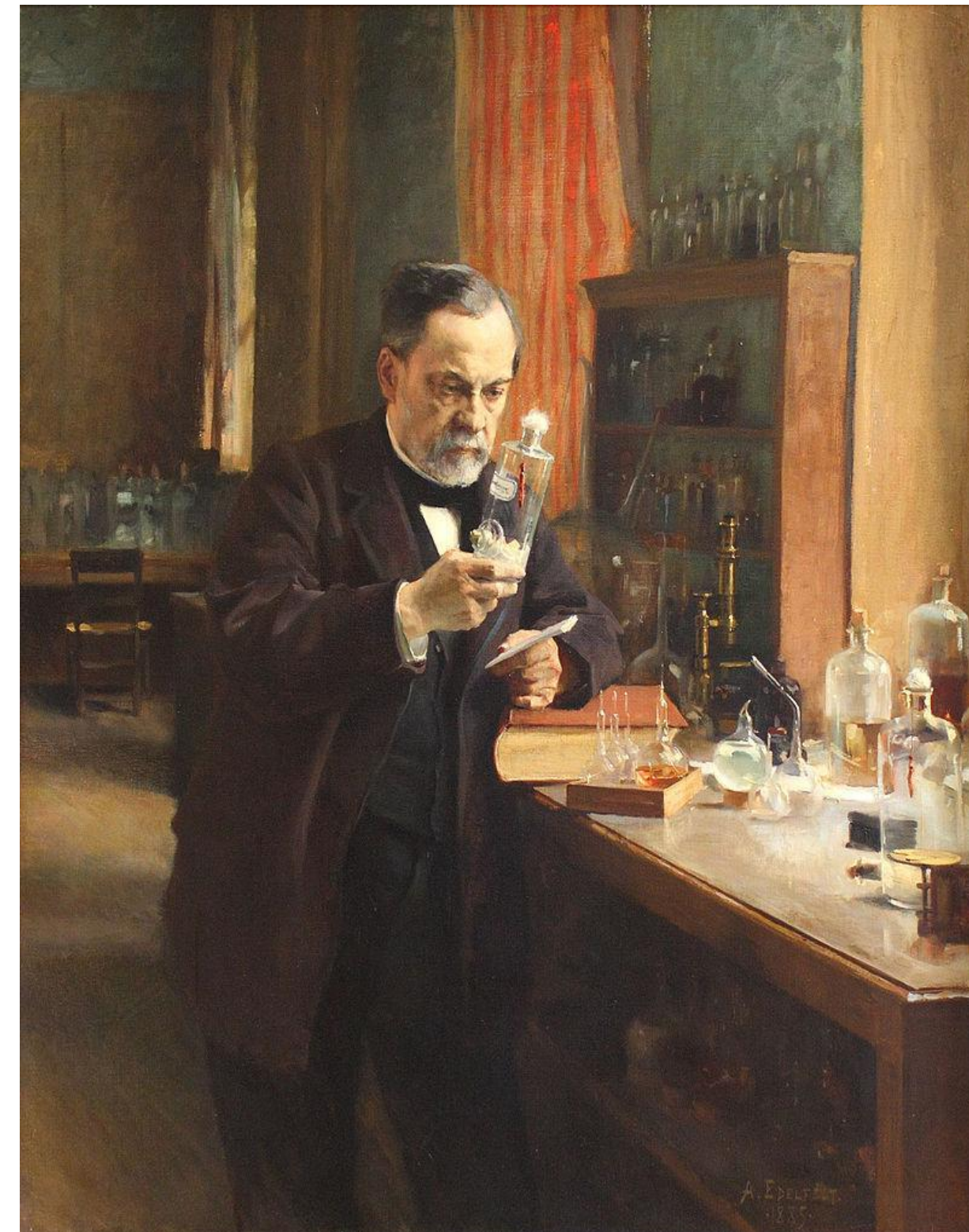
## Clasic și modern în vaccinare

Un alt moment în dezvoltarea de vaccin a fost vaccinul antirabic a lui Pasteur (1885) care a avut un mare impact în lupta împotriva bolilor transmisibile, și care a definit conceptul de imunizare cu microorganisme omorâte, pe lângă cele atenuate. Si acest concept a fost criticat în perioada respectivă.

El a condus la dezvoltarea de vaccinuri la începutul secolului al 19-lea și odată cu dezvoltarea microbiologiei, s-a reușit lupta împotriva unor boli transmisibile precum antrax, holera, ciuma, febra tifoidă, tuberculoză, difterie, tetanos.

**Din punct de vedere tehnologic, conceptul simplificat este purificare microorganism -> omorâre -> imunizare.**

O soluție alternativă și rapidă este reprezentată de proteine recombinante.

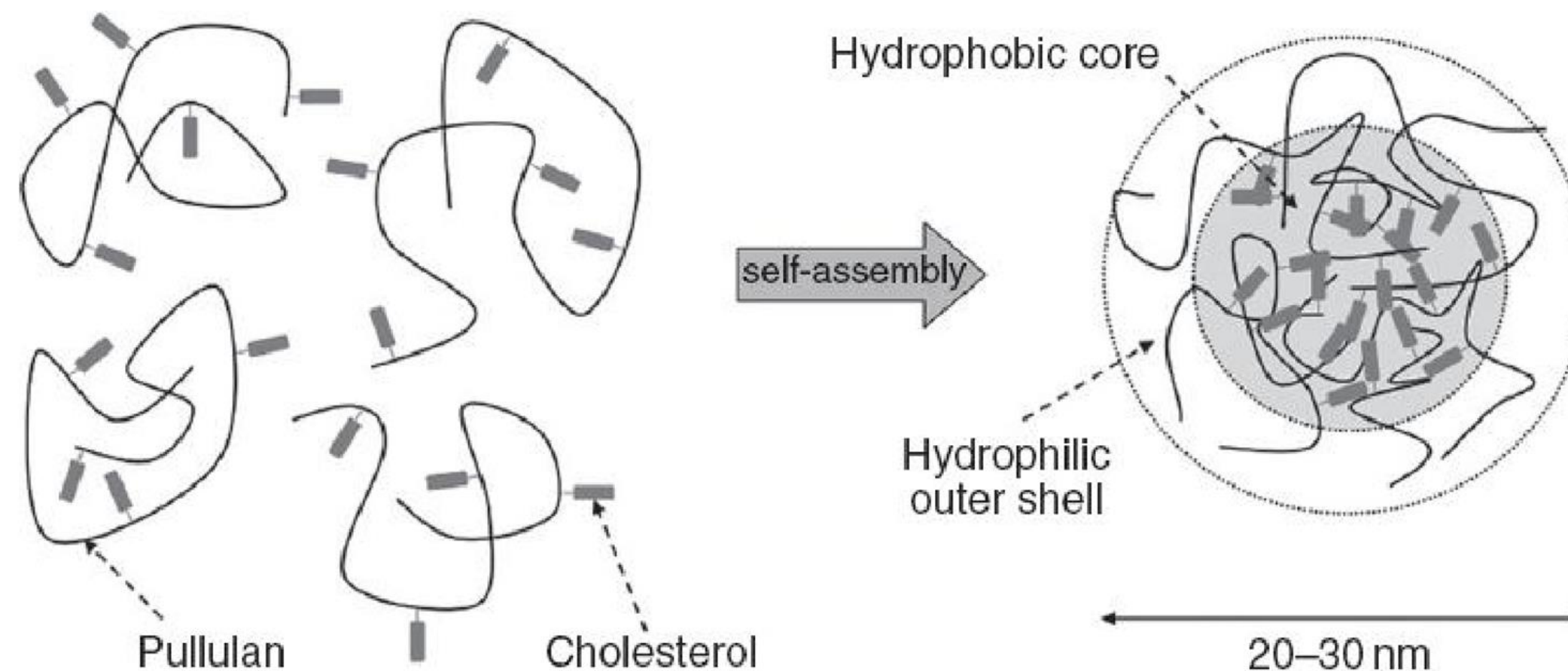




# Vaccine recombinant - PCP - palmitoyl carboxymethyl pullulan



## PCP - palmitoyl carboxymethyl pullulan



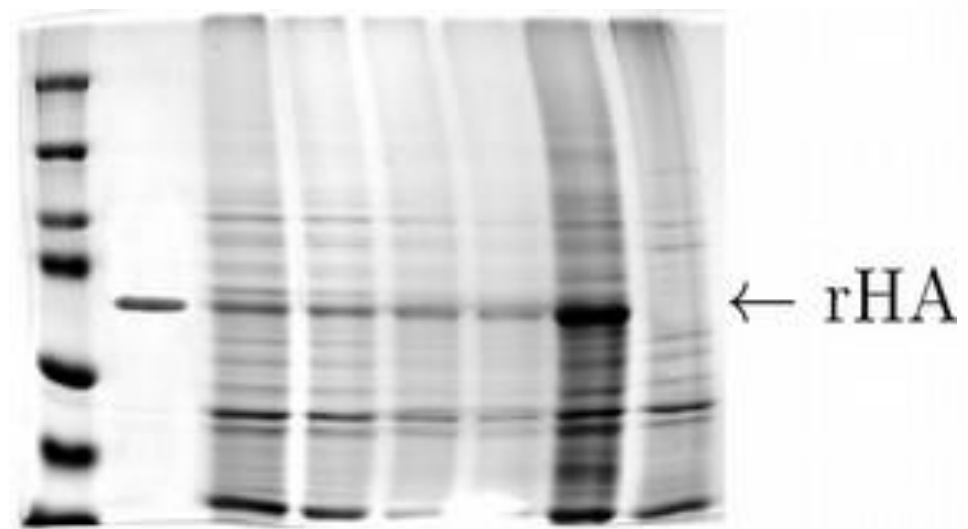
*I. Lee and K. Akiyoshi. Single molecular mechanics of a cholesterol-bearing pullulan nanogel at the hydrophobic interfaces. Biomaterials, 25(15):2911-2918, July 2004.*



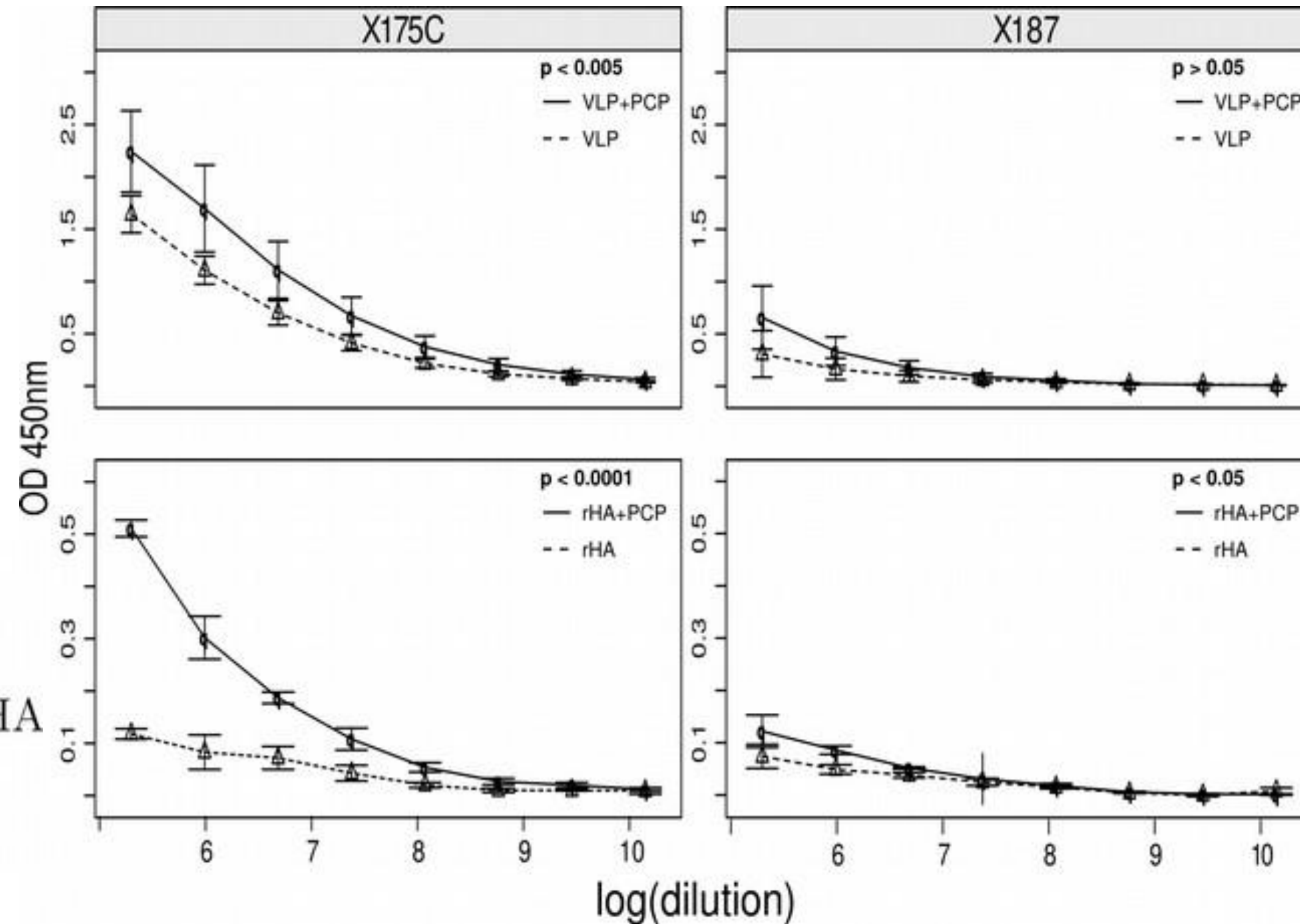
# Vaccine recombinant - Polizaharide nano-structurate și proteine recombinante



Răspunsul imun la hemaglutinina virusului gripal exprimat în sistem procariot și asamblat cu polizaharide nano-structurate este conformațional fiind dependent de tulpină.



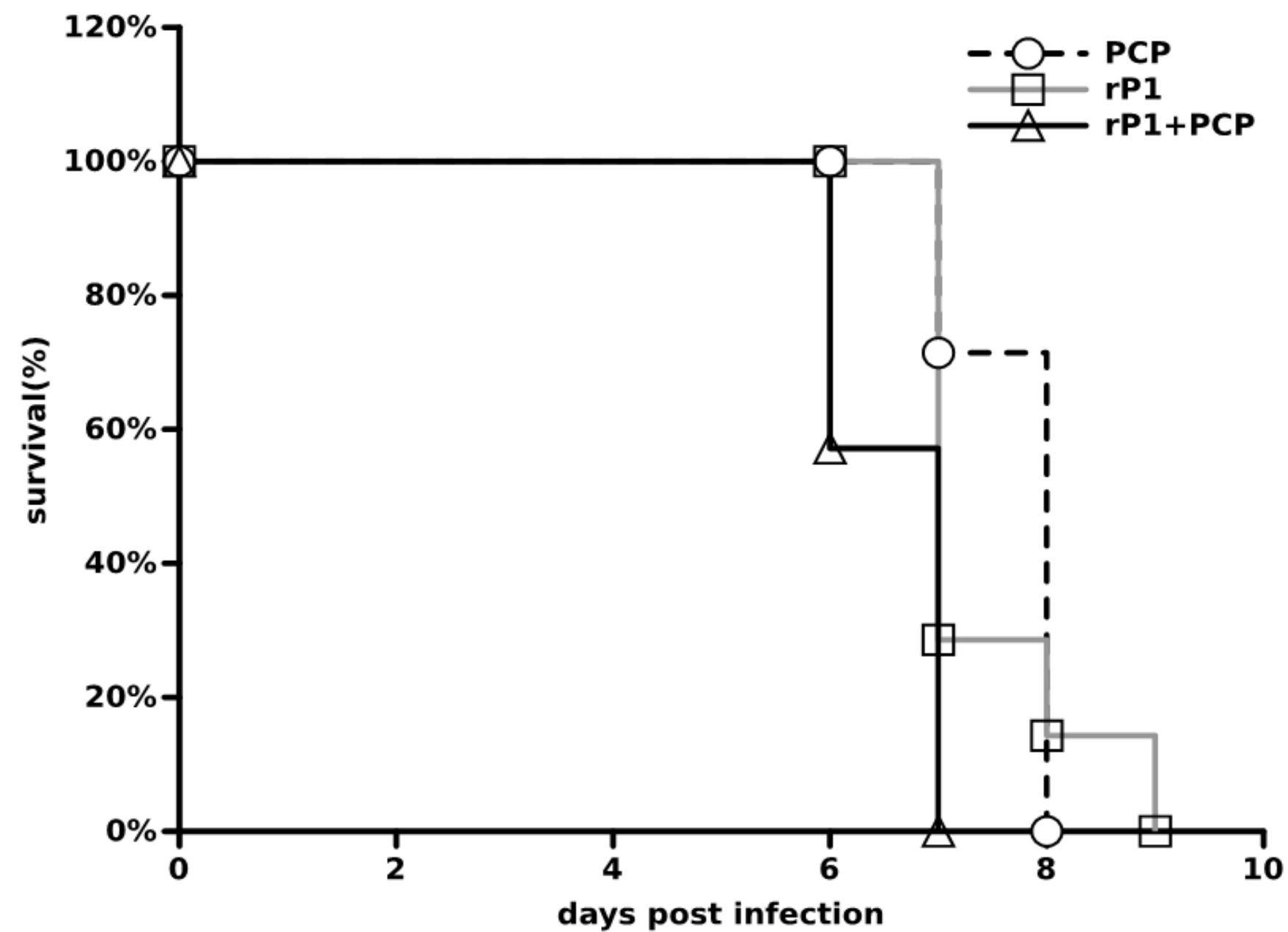
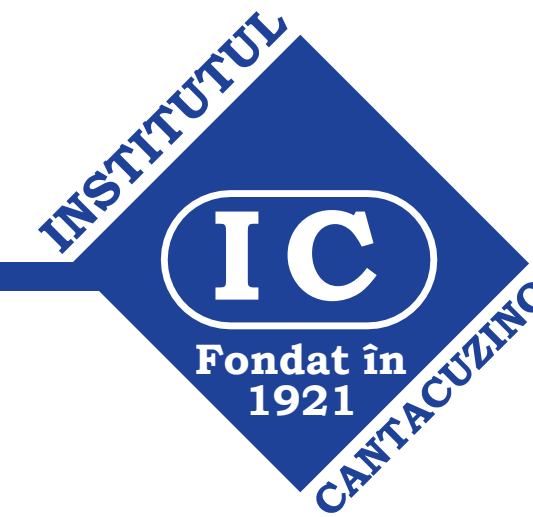
Catalin |Tucureanu si colaboratori







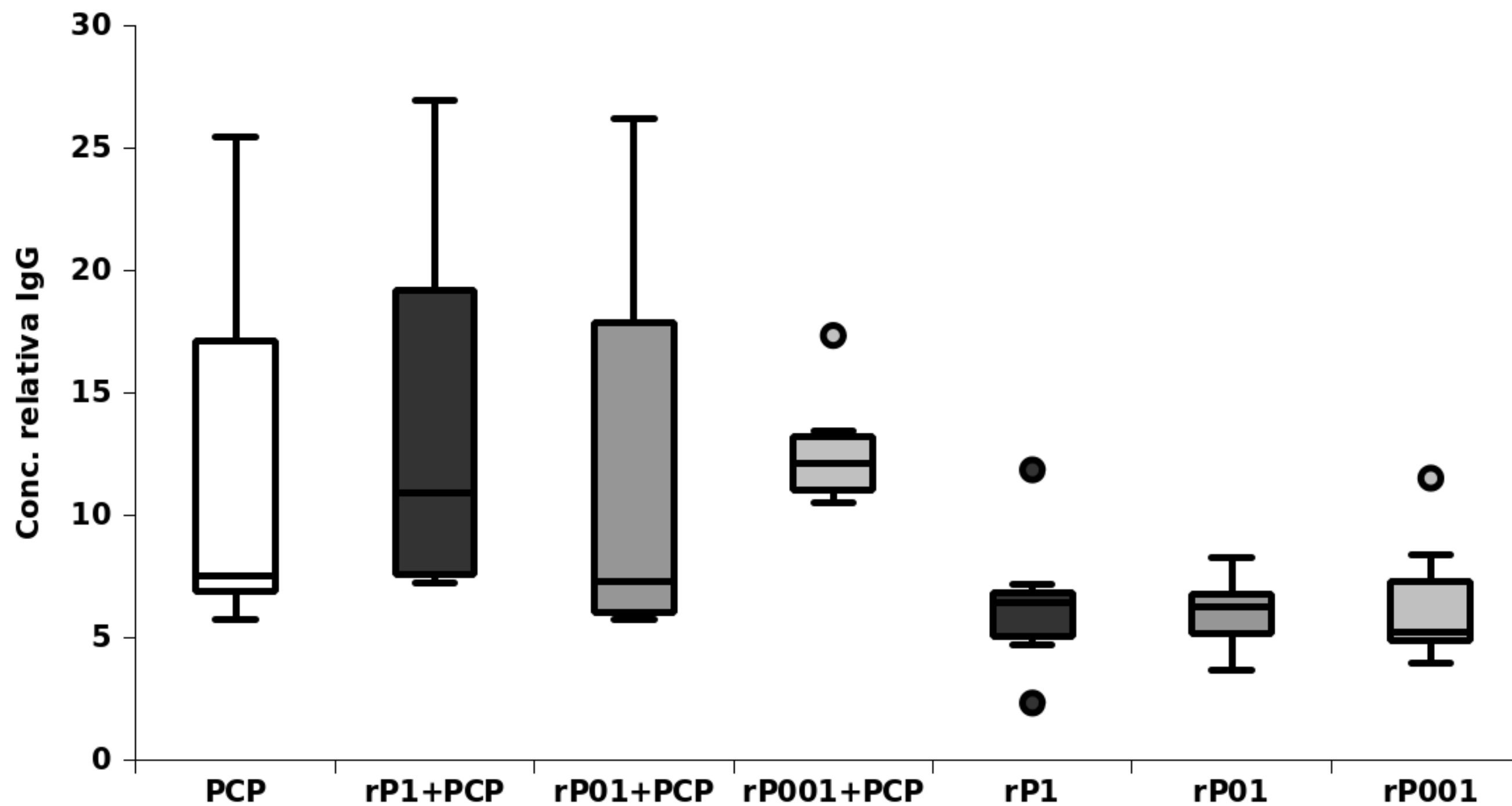
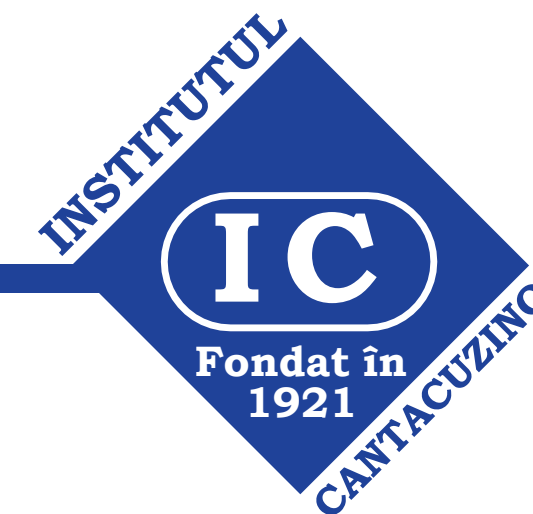
# Vaccine recombinant - Supraviețuirea la infecția cu PR8 la șoareci imunizați cu hemaglutinina PR8 recombinantă



Cătălin Tucureanu si colaboratori



# Vaccine recombinant - Răspunsuri cu anticorpi (ELISA) la șoareci vaccinați cu hemaglutinina PR8 recombinantă



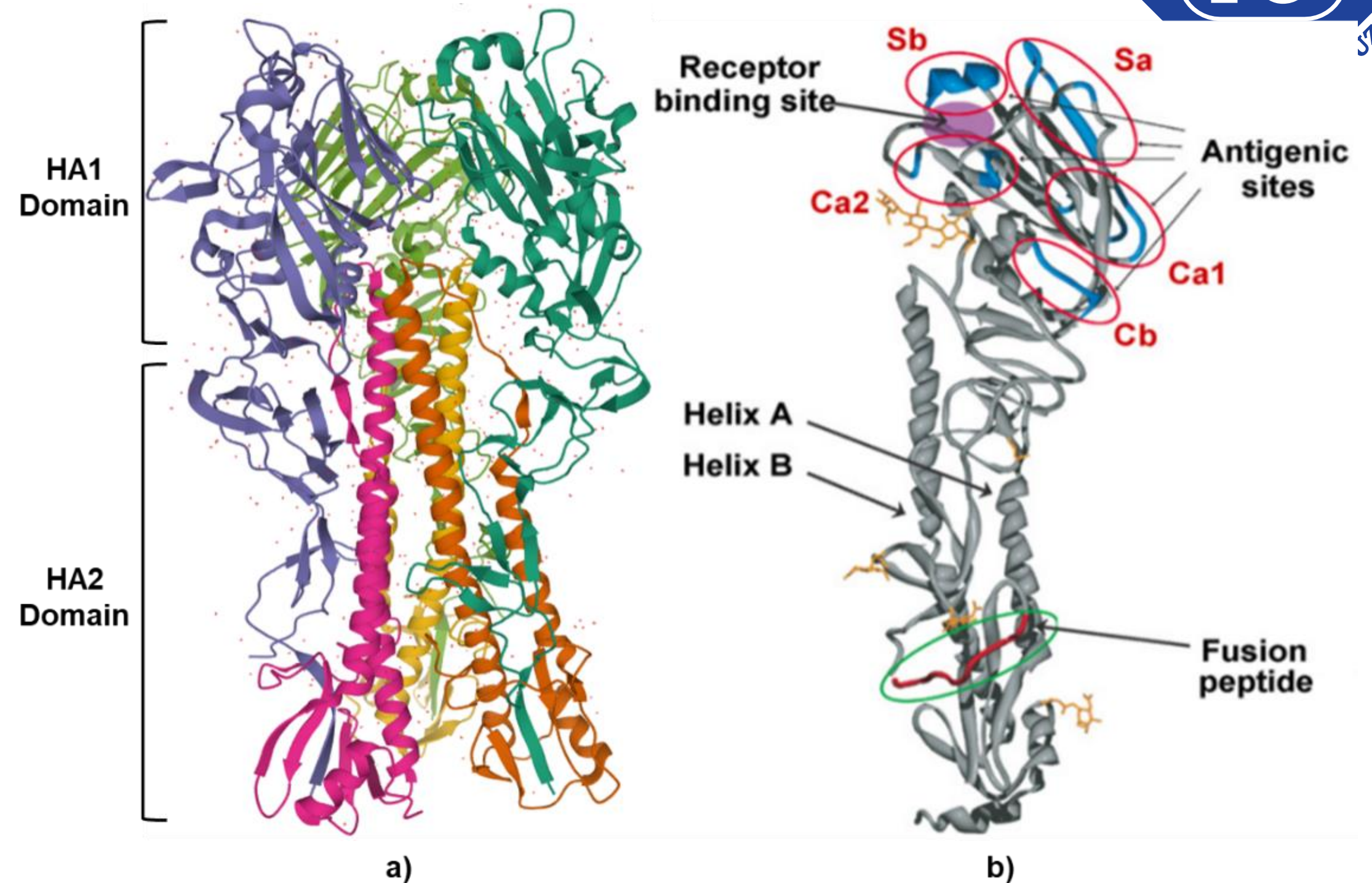


# Vaccine recombinant - hemaglutinina PR8 recombinantă



## Objective

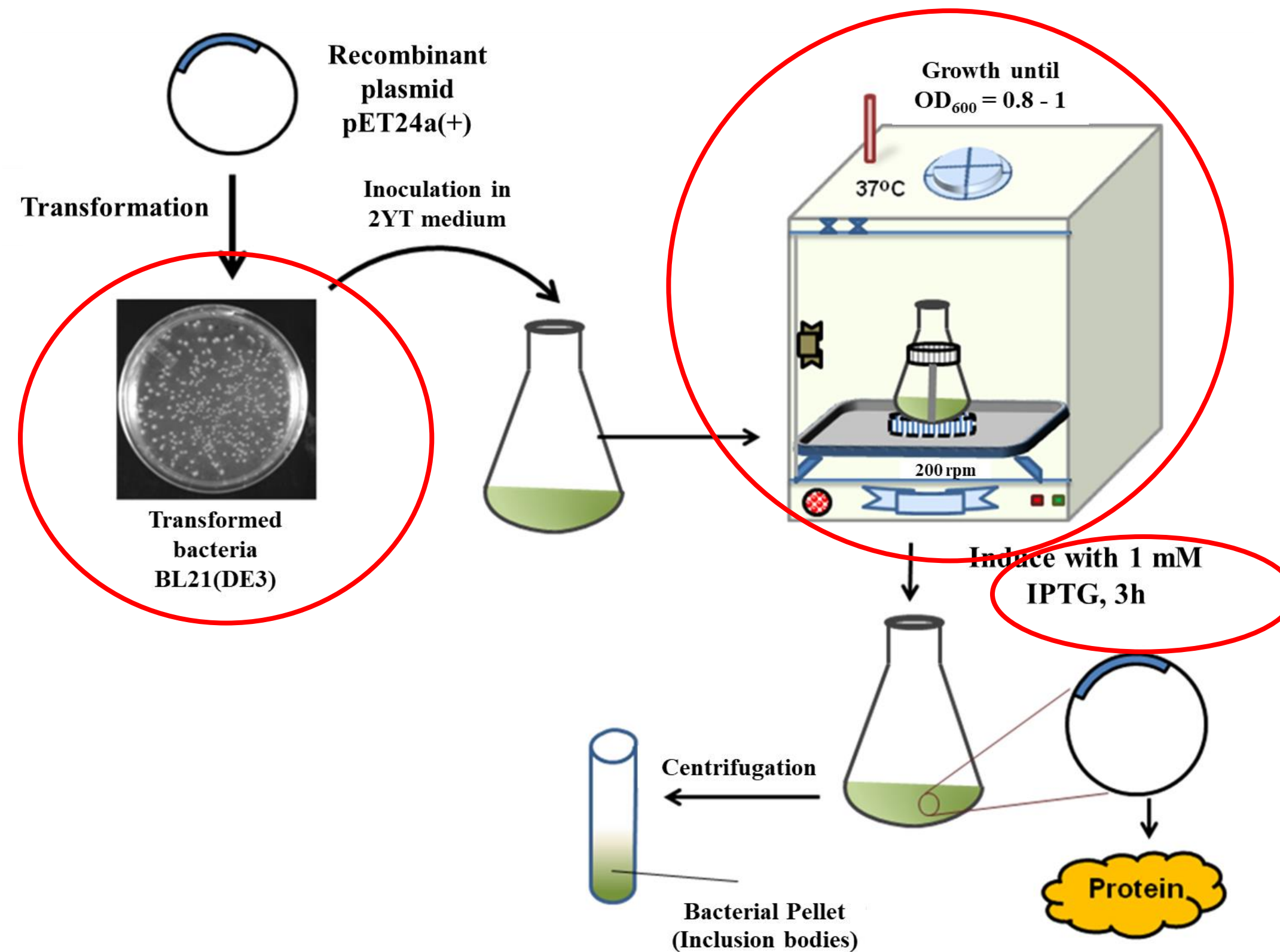
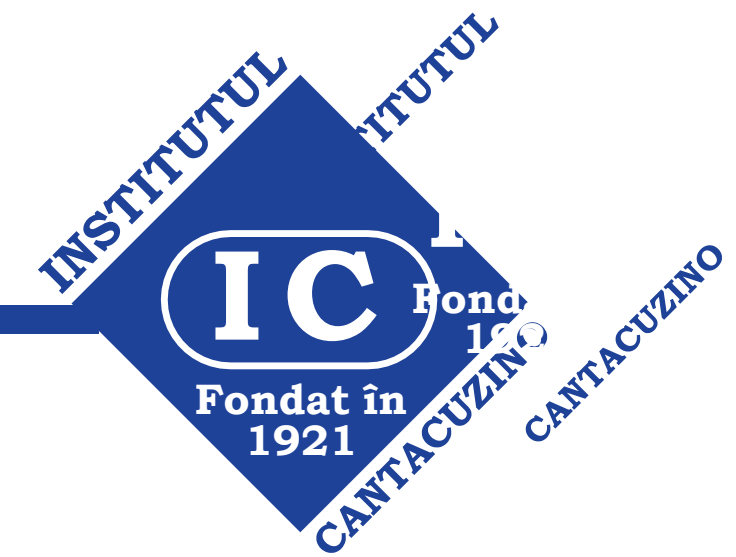
- Elaborarea metodologiilor de exprimare a proteinelor antigenice cu potențial imunogen pentru virusul gripal A;
- Dezvoltarea de screening-uri pentru optimizarea și evaluarea procesului de repliere și a stabilității antigenului.



Structura cristalină a hemaglutininei din virusul gripal A; a) conformația trimetrică; b) Diagrama panglică a unui monomer HA neclivat



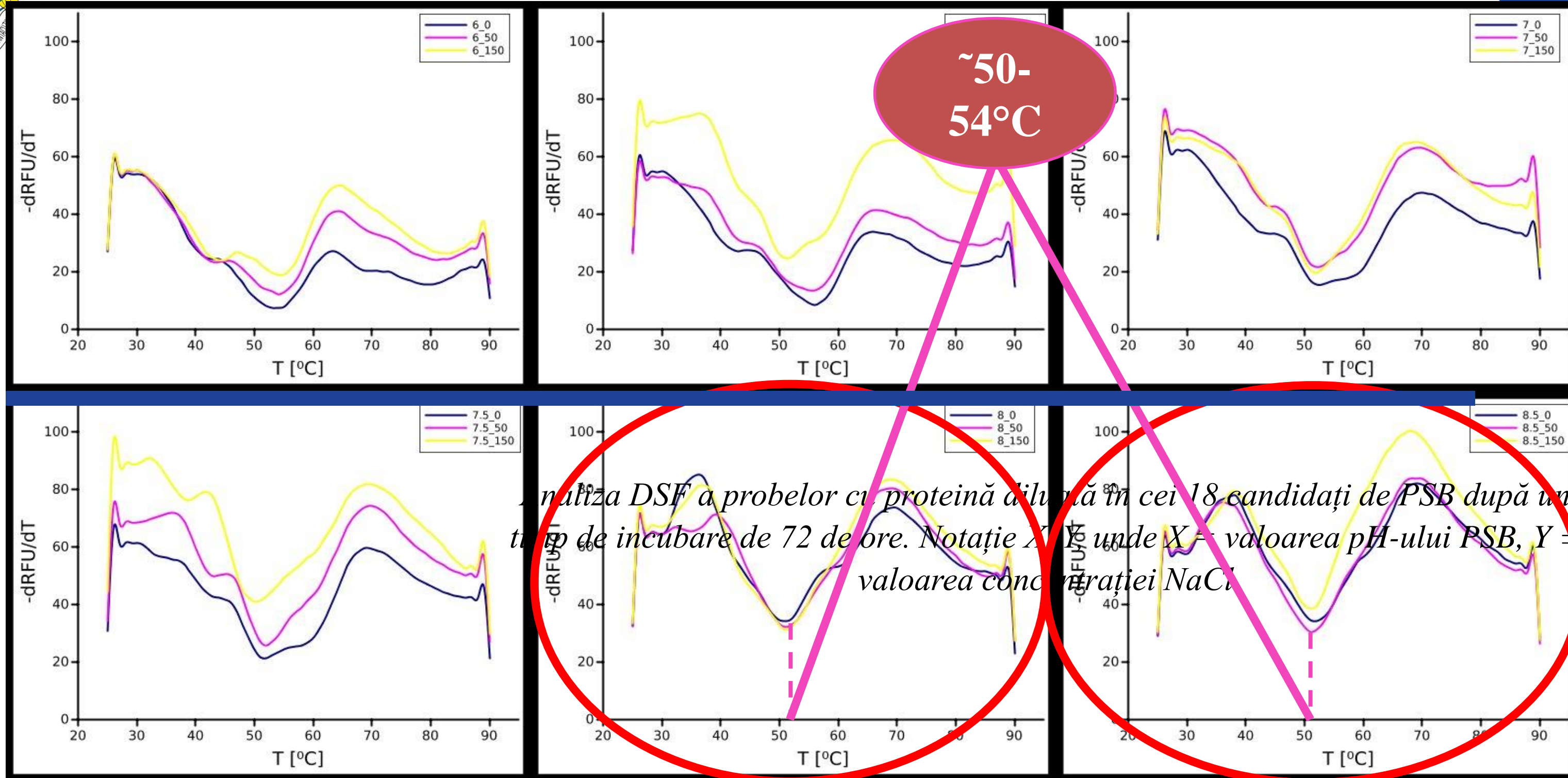
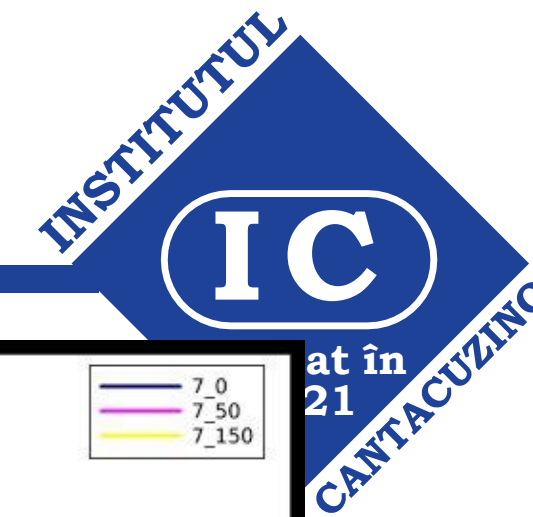
# Vaccine recombinant – transformarea E. coli si expresia de proteina



\* IPTG - Isopropyl  $\beta$ -d-1-thiogalactopyranoside



# Vaccine recombinant - Refolding Screening: Protein Stabilization Buffer (PSB)

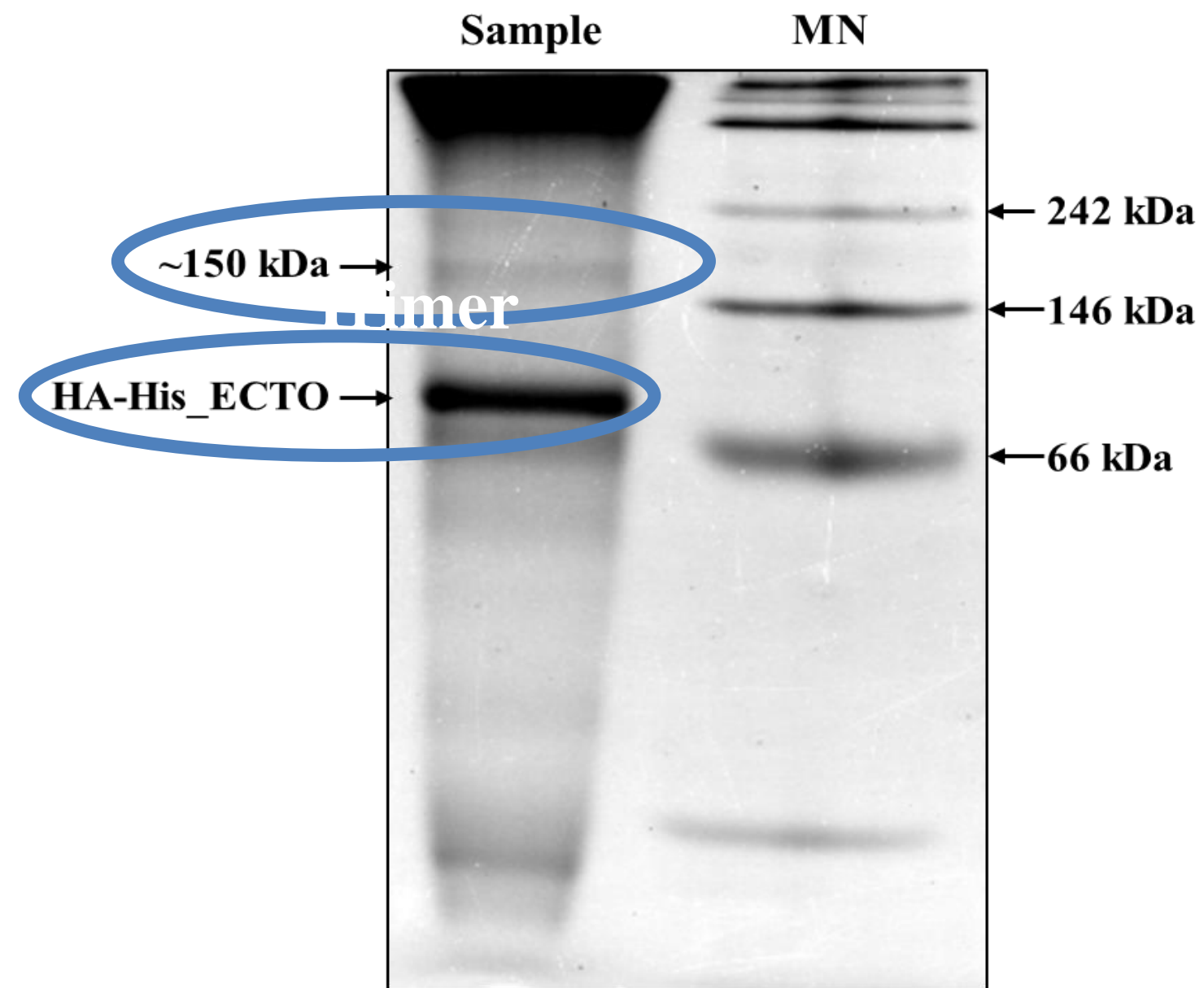


Analiza DSF a probelor cu proteină diluată în cei 18 candidați de PSB după un timp de incubare de 72 de ore. Notăție X\_Y unde X = valoarea pH-ului PSB, Y = valoarea concentrației NaCl

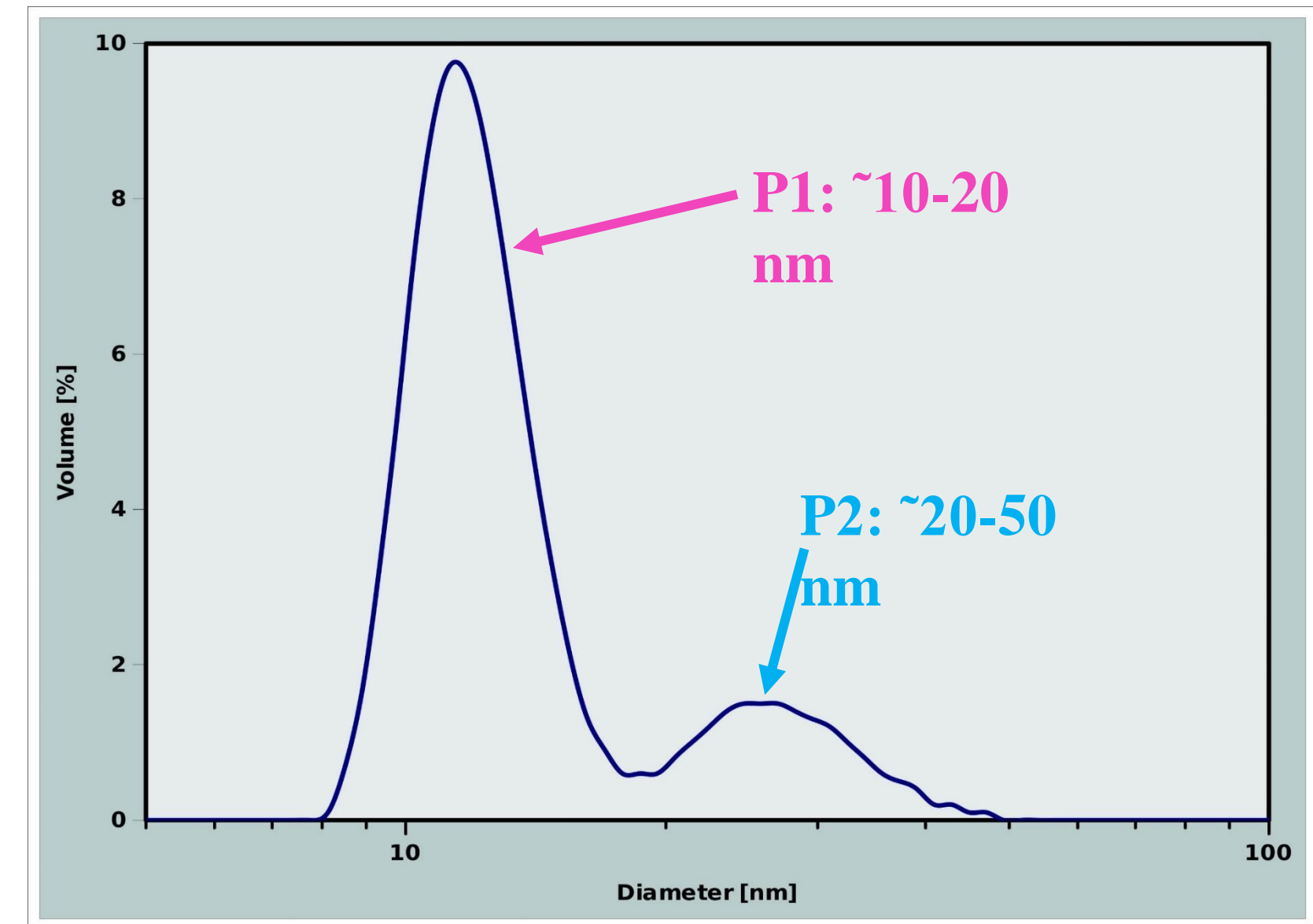
Analiza de stabilitate a probelor cu proteină diluată în 18 candidați de PSB după un timp de incubare de 72 de ore. Notăție X\_Y, unde X = valoarea pH-ului PSB, Y = valoarea concentrației NaCl



# Vaccine recombinant – Evaluarea oligomerizării proteinelor



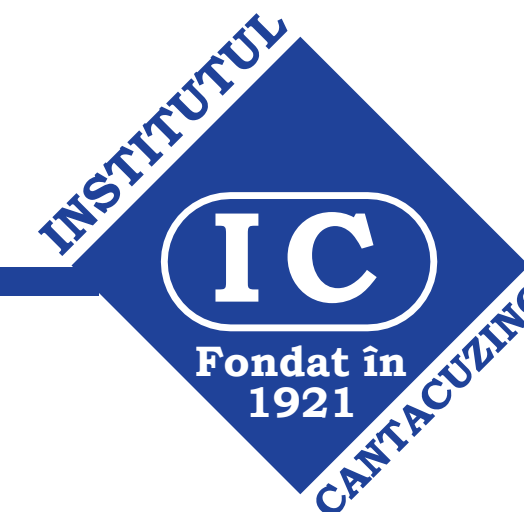
Analiza în gradient Blue Native Polyacrylamide Gel; electroforeza BN-PAGE a probei HA-His\_ECTO (dializată și concentrată); MN - NativeMark™ Protein Std



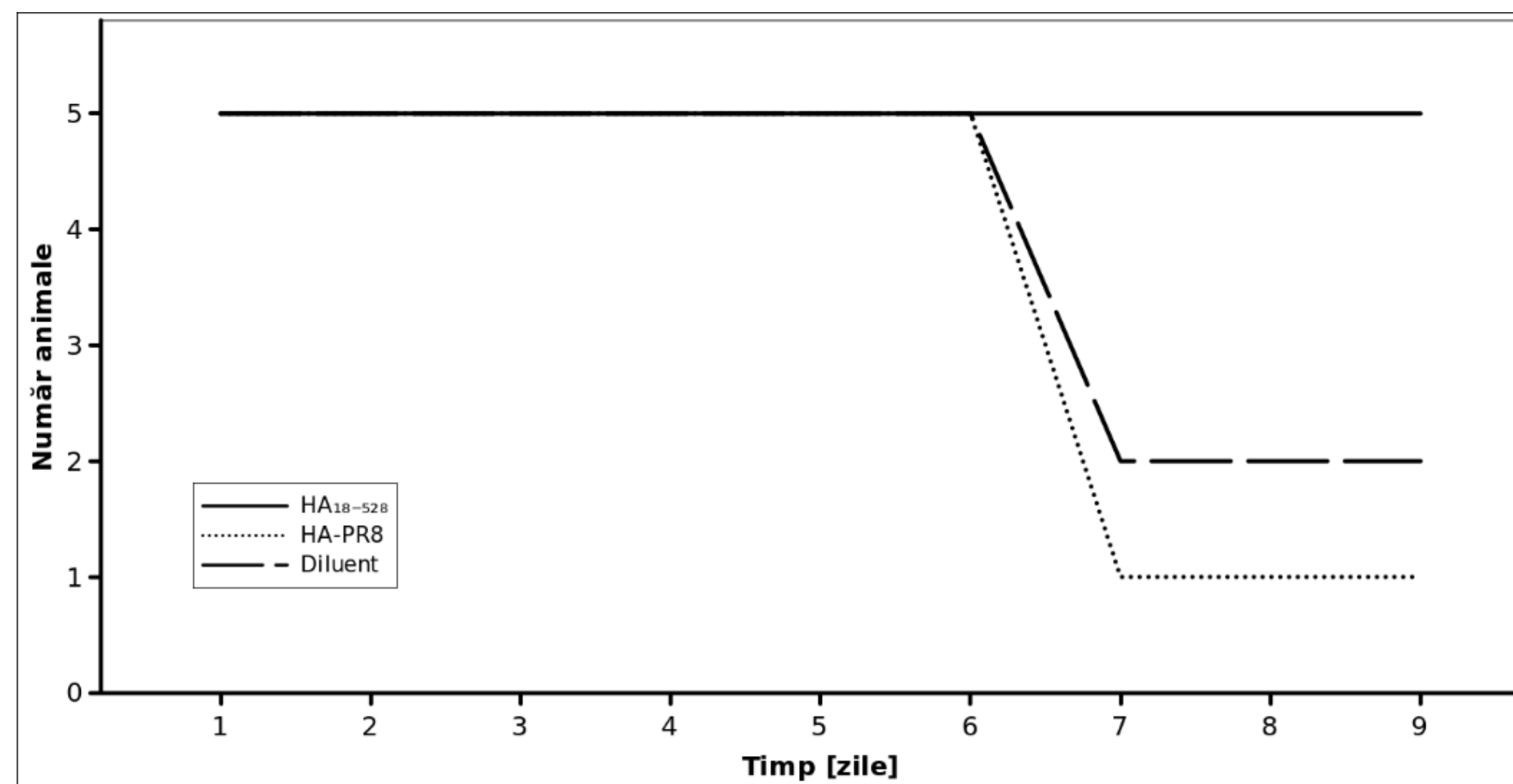
Distribuția mărimii particulelor în soluțiile de proteine HA-ECTO diluate analizate prin difuzia dinamică a luminii (DLS)



# Vaccine recombinant – Evaluarea oligomerizării proteinelor

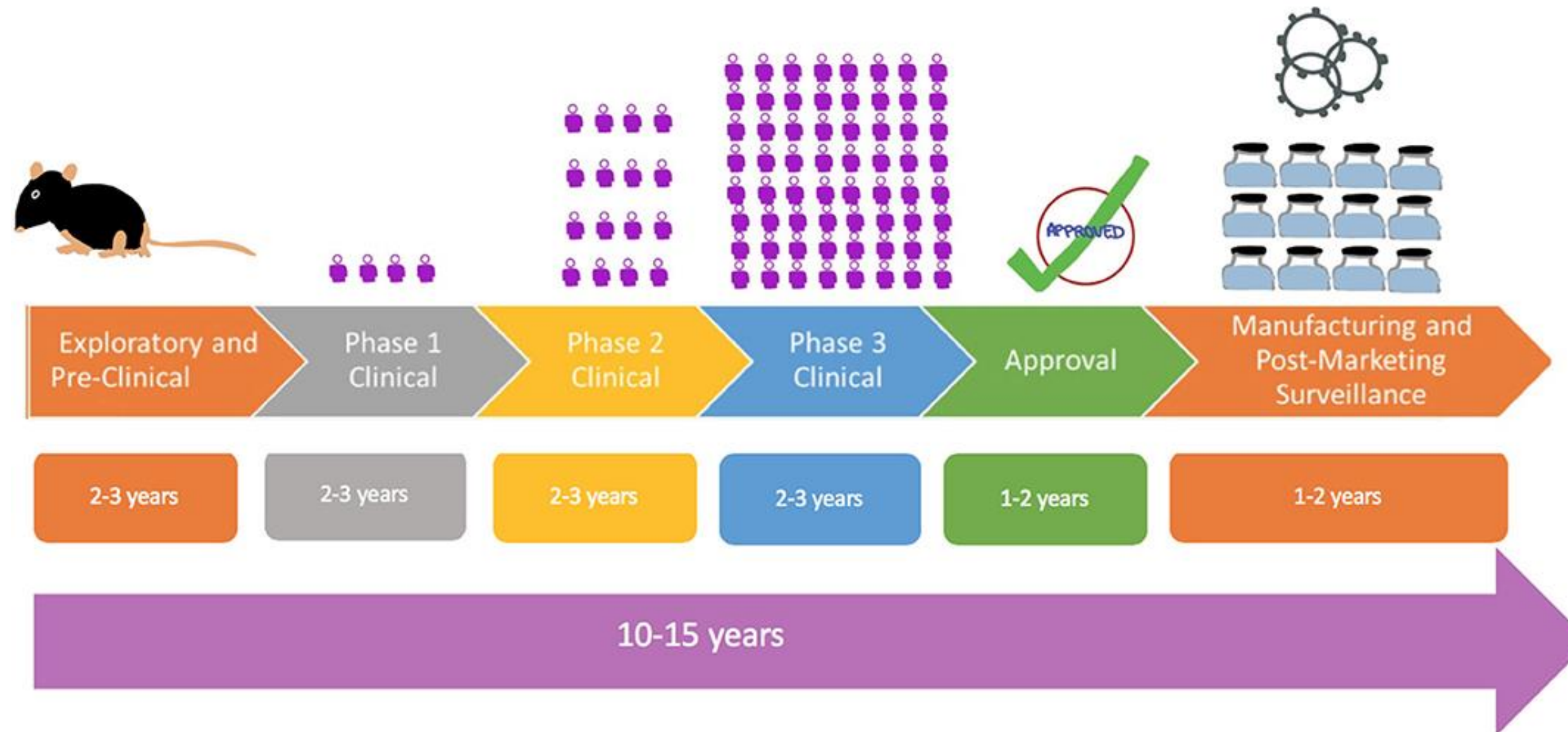


Șoarecii imunizați cu HA18-528 au supraviețuit pe toată perioada de monitorizare a experimentului, scăzând în greutate la scurt timp după infecție, dar recuperând până în ziua a 9-a. În celelalte două grupuri a existat mortalitate semnificativă, însoțită de scădere dramatică în greutate și semne clinice. Acest rezultat dovedește potențialul proteinei dezvoltate, HA18-528, de a oferi protecție prin imunizare în cazul infecției experimentale. Studiul pe animal a fost aprobat de Comisia de Etică (25/24.03.2020) și de IDSA (522/12.06.2020). Metodele de manipulare a animalelor au respectat normele și reglementările în vigoare.





# Pandemia 2020 - Dezvoltarea unui vaccin

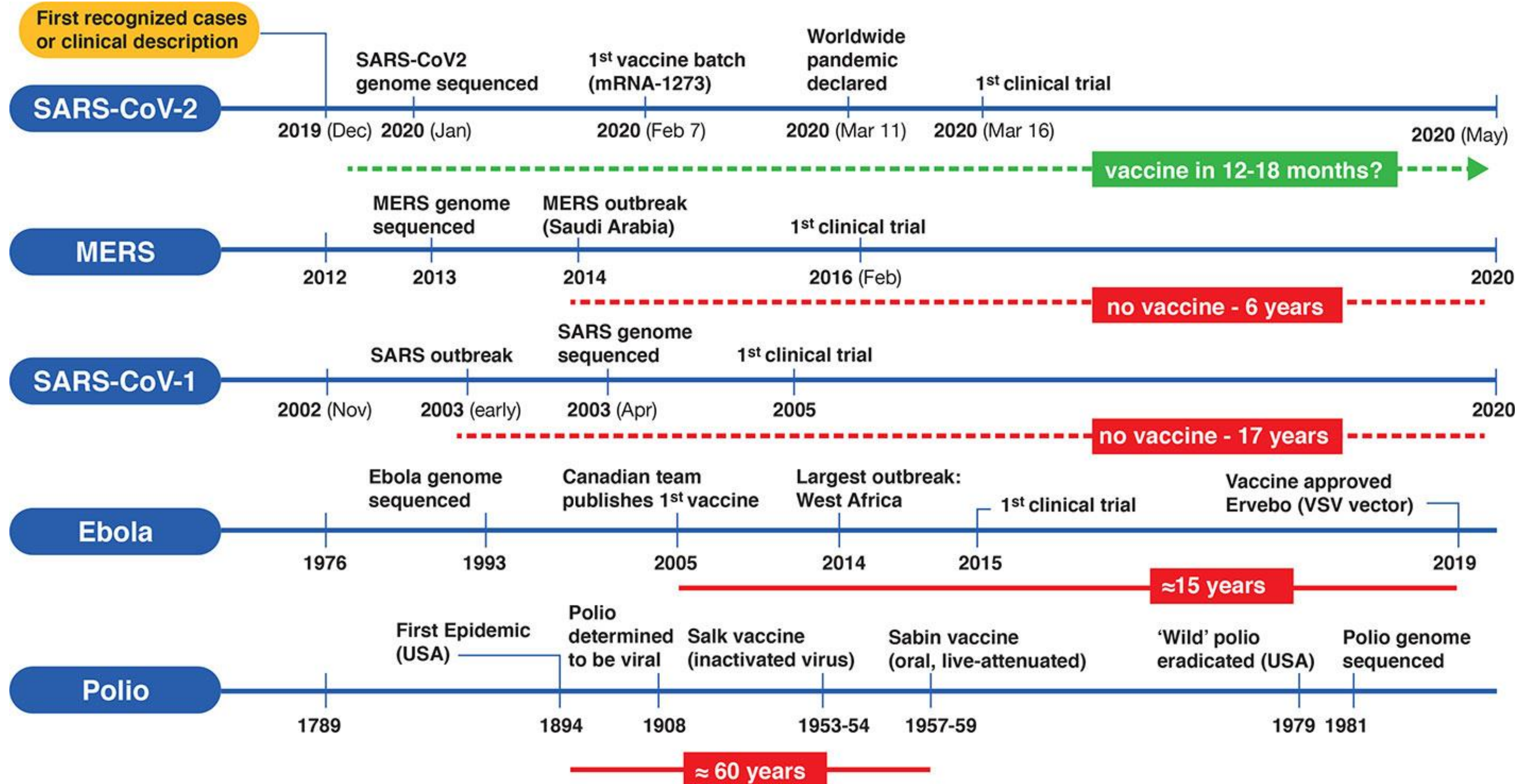


Schema care arată procesul tradițional de dezvoltare a vaccinului de la studii exploratorii pre-clinice până la studii de fază 1 la un număr relativ mic de voluntari de control, așa cum este prezentat în figură la studii mai mari de fază 2 și fază 3. Simbolul mic este o reprezentare a numărului de subiecți umani în diferite studii.



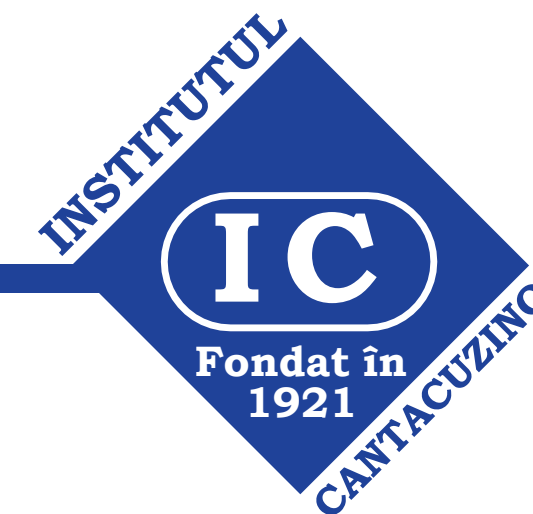


# Pandemia 2020 - Dezvoltarea unui vaccin





# Pandemia 2020 - Dezvoltarea unui vaccin



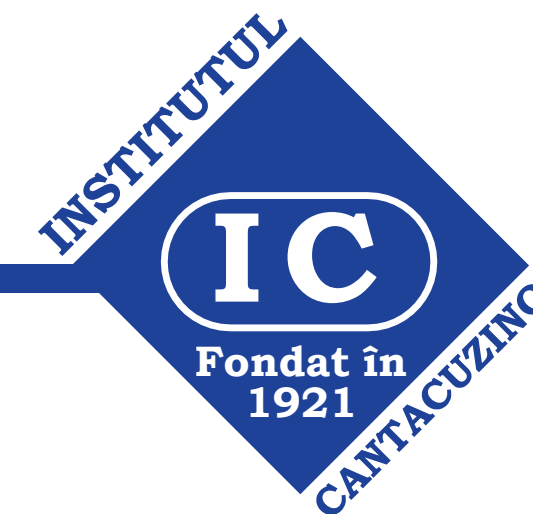
Până în prezent, dezvoltarea unui nou vaccin a fost un proces îndelungat care durează de obicei între 10 și 15 ani. Cel mai rapid vaccin a fost dezvoltat și aprobat pentru utilizare este pentru oreion, care a durat aproximativ 5 ani.

Prin urmare, a fost în mod clar o provocare dezvoltarea unui vaccin împotriva COVID-19 într-un interval de 12-24 luni.

- Prima fază a dezvoltării vaccinului este o etapă exploratorie care implică cercetarea de bază de laborator și modelarea computerizată pentru identificarea antigenelor naturale sau sintetice care pot fi utilizate ca vaccin candidat, care ar putea ajuta la prevenirea sau tratarea unei boli.
- A doua etapă cuprinde studii preclinice, care implică sisteme de cultură celulară sau de cultură tisulară și studii pe un model animal pentru a evalua siguranța vaccinului candidat și imunogenitatea acestuia sau capacitatea de a provoca un răspuns imun. Odată ce siguranța, imunogenitatea și eficacitatea sunt demonstrate la animale, se realizează progrese în studiile clinice la om care testează siguranța și imunogenitatea în grupuri mici, apoi în grupuri mari pe 3 faze.



# Pandemia 2020 - Dezvoltarea unui vaccin



Odată ce studiile clinice la om sunt finalizate și siguranța și eficacitatea clinică au fost determinate, atunci vaccinul va trece la:

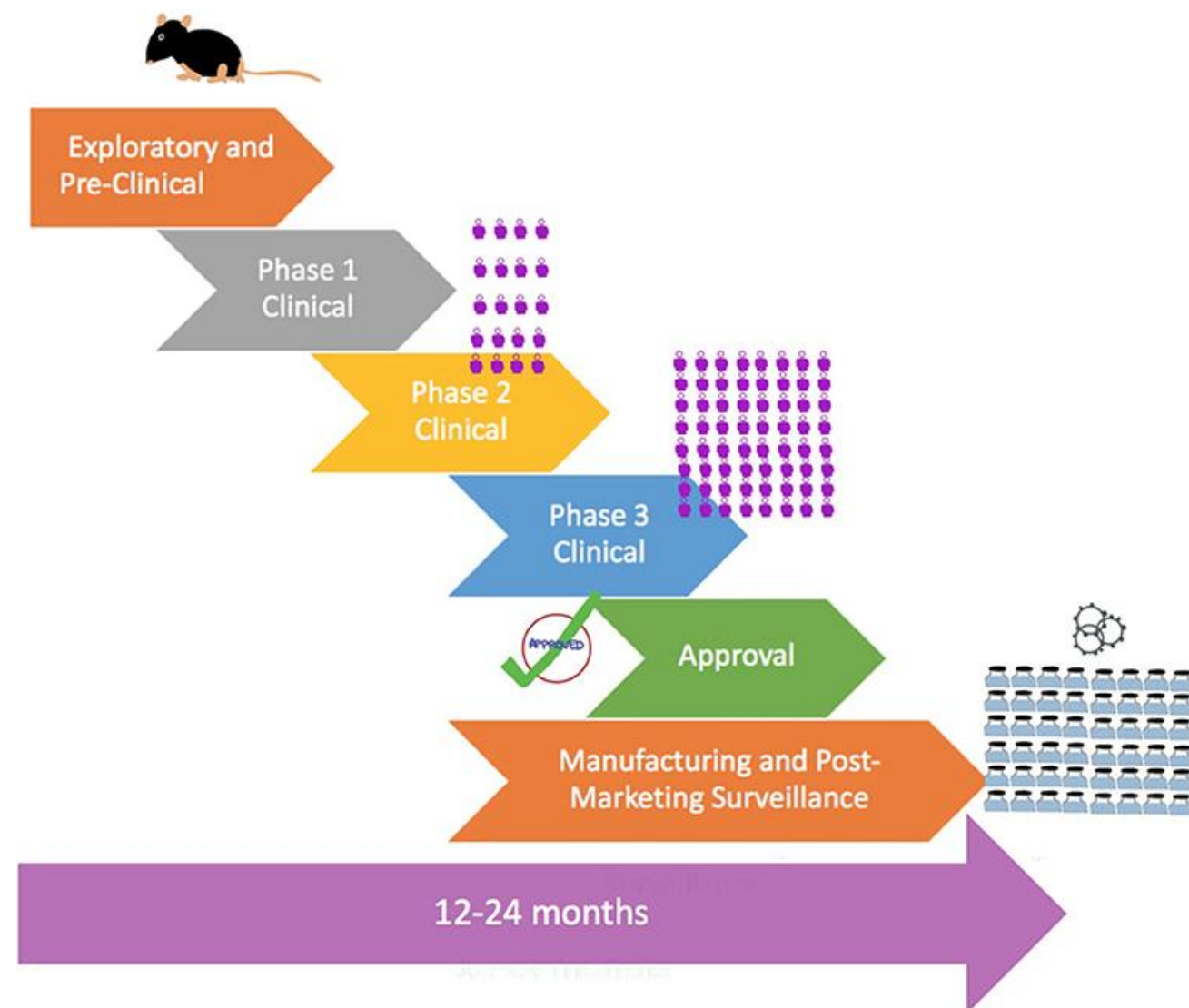
- Evaluare și aprobare: În mod normal, organismele de reglementare, cum ar fi Food and Drug Administration (FDA) din SUA sau Agenția Europeană pentru Medicamente din UE, trebuie să revizuiască rezultatele studiilor clinice și să decidă dacă vaccinul este potrivit pentru a fi aprobat. Deoarece acest proces poate dura de la 1 la 2 ani, vaccinurile pot fi aprobate pentru utilizare de urgență într-o pandemie.
- Supravegherea de fabricație și post-comercializare: Aceasta se face după ce vaccinul este comercializat pentru uz public și monitorizat pentru eficacitatea generală a populației. De asemenea, înregistrează efecte adverse care ar putea fi experimentate după ce vaccinul este adoptat pentru utilizare pe scară largă.

Având în vedere problemele provocate de pandemia COVID-19 și nevoia urgentă pentru un vaccin eficient la nivel global, dezvoltarea vaccinului poate fi accelerată prin combinarea fazelor, așa cum se arată în Figura 2 .

Un exemplu ar fi combinarea fazelor 1 și 2 pentru a testa siguranța directă a sutelor de oameni. Vaccinurile, de asemenea, nu trec prin procesul de aprobare completă și pot fi aprobate pentru utilizare de urgență pentru eliberare mai rapidă pentru utilizare de către cele mai vulnerabile grupuri. Exemplu este că 5 vaccinuri au fost selectate de Casa Albă pentru programul său Operation Warp Speed pentru a accelera dezvoltarea vaccinului și a le avea disponibile până la sfârșitul anului 2020 pentru utilizare de urgență și au miliarde de doze până în 2021.



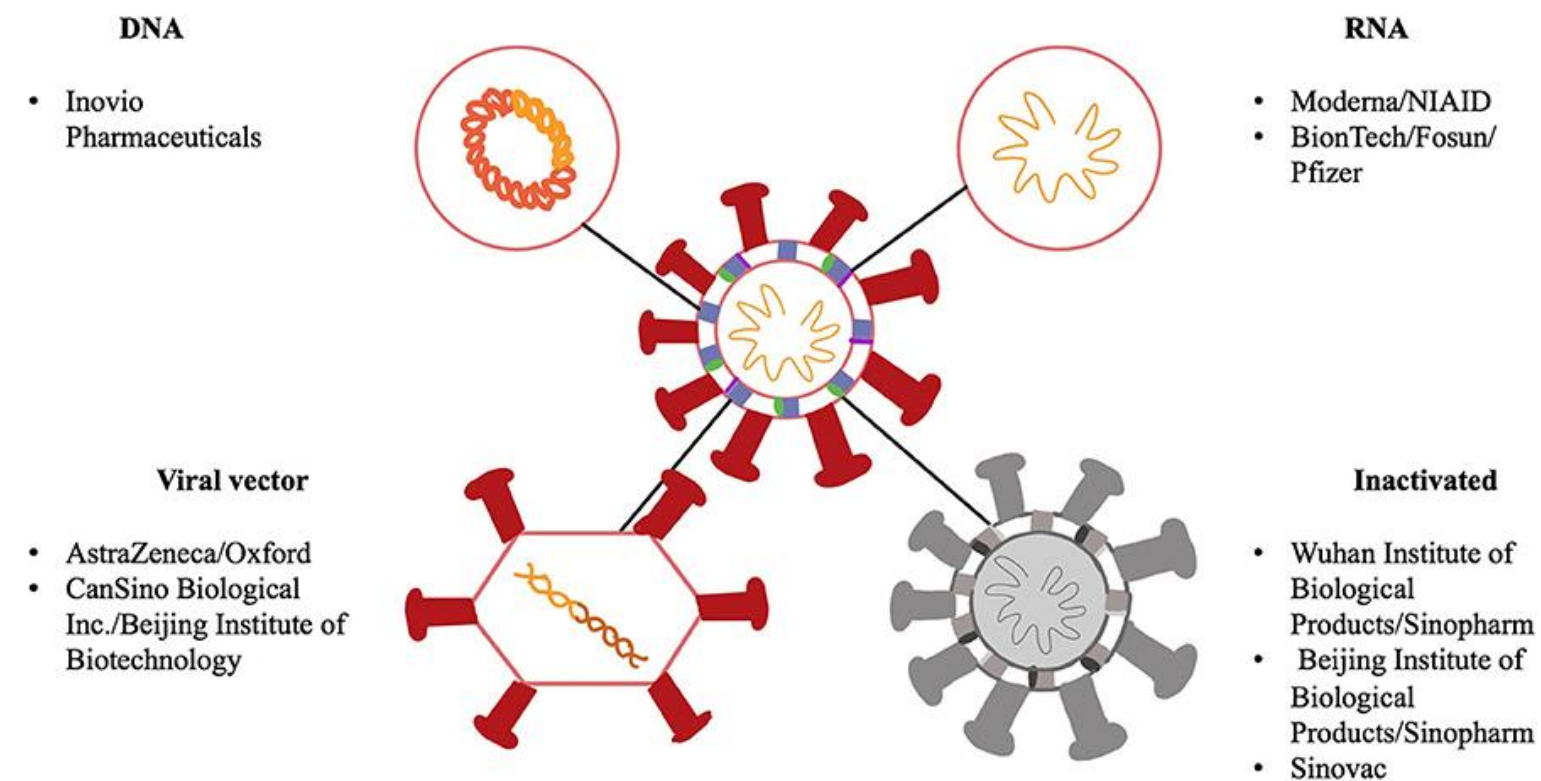
# Pandemia 2020 - Dezvoltarea unui vaccin



- Schema care arată procesul accelerat de dezvoltare a vaccinului într-o pandemie cu faze combinate, pre-aprobare și producție rapidă la scară largă.
- Sensul este de a avea o reprezentare a numărului de subiecți umani în testari.



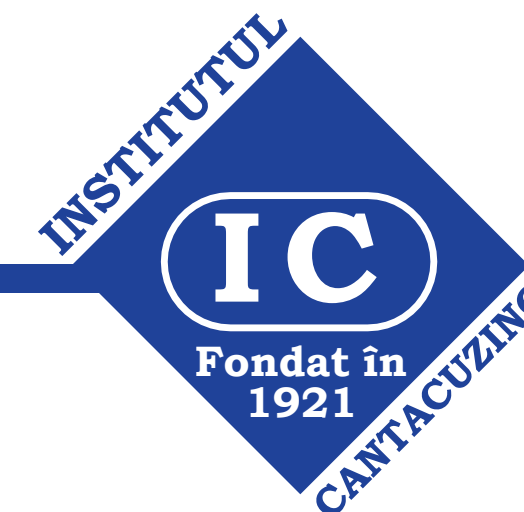
# Pandemia 2020 - Dezvoltarea unui vaccin



- Schema este o reprezentare a SARS-CoV-2 împreună cu diferite componente ale virusului ca potențiale ținte de vaccin.
- SARS-CoV-2 este un virus ARN monocatenar, are un strat lipidic și constă dintr-o proteină spike S, împreună cu proteinele de membrană și de înveliș.
- Vaccinurile pe bază de ADN și ARN sunt fabricate folosind secvența virală a virusului.
- Vaccinurile vectoriale virale utilizează un alt virus, de exemplu un adenovirus și încorporează material genetic din SARS-CoV-2 în genomul său.
- Vaccinurile inactivate SARS-CoV-2 sunt cu virus inactivat folosind mijloace fizice sau chimice.



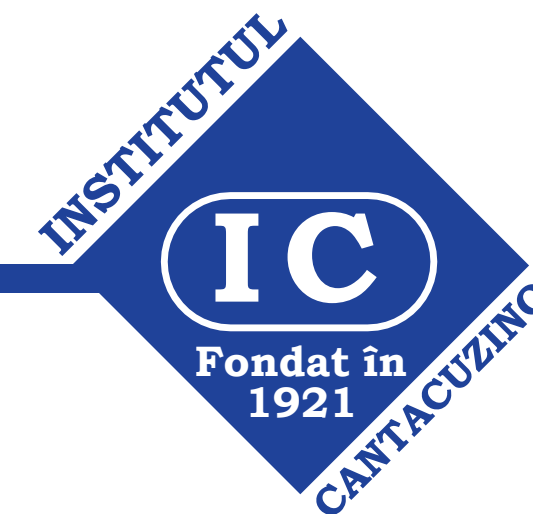
## Pandemia 2020 - Situație vaccinuri SARS-CoV-2



- In momentul de fata sunt deja mai mult de **200 de candidați de vaccin** în dezvoltare cu peste **34 în studii clinice** și **6 la începutul studiilor clinice de faza III**.
- Dezvoltarea rapidă de vaccinuri în aceasta perioadă se bazează atât pe platformele clasice cu profil de siguranță și eficacitate cunoscut din vasta experiența in lupta cu alte maladii virale si bacteriene, cât si pe platforme ce, **deși încă neutilizate pana acum pe oameni**, permit elaborarea si producția mult mai rapidă a candidaților vaccinali.
- In momentul de fata, încă nu sunt cunoscuți parametrii imuni corelați cu protecția in cazul SARS-Cov-2, așa ca, majoritatea studiilor urmăresc **dezvoltarea unui răspuns imun cat mai vast** (anticorpi, anticorpi neutralizanti - ce pot bloca legarea virusului de celule, răspuns prin limfocite T helper si citotoxice ce pot conduce la eliminarea celulelor infectate, etc.).
- Este dificila compararea eficientei vaccinurilor dezvoltate pe platforme **diferite înaintea studiilor clinice de faza III** in care sa fie observat **direct efectul de protecție pe un număr mare de oameni**.



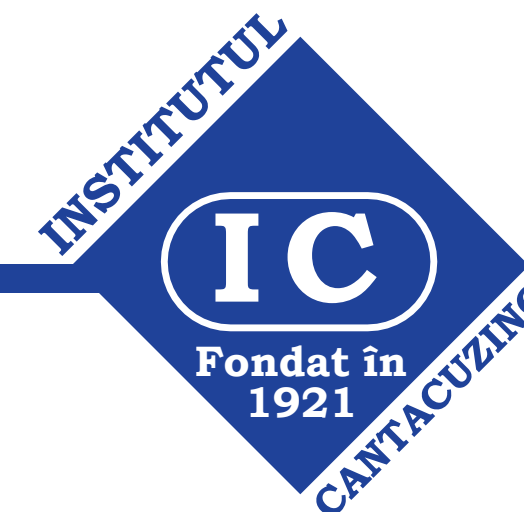
## Virus întreg inactivat- vaccin clasic



- Marea majoritate a vaccinurilor umane utilizate pana acum se bazează pe **virusuri atenuate** sau **inactivate**.
- Vaccinul bazat pe virusuri inactivate este produs din **virus crescut pe linii celulare** si **ulterior inactivat** prin diverse metode fizico-chimice pentru a nu mai fi infecțios.
- Deși bine cunoscuta, platforma presupune cultivarea in cantități mari a unui virus cu grad mare de infecțiozitate, punând probleme in privința numărului de doze disponibile cat si riscuri de biosecuritate majore.
- In momentul de fata exista în prezent, în curs de evaluare bazate pe SARS-Cov-2 inactivat COVID-19 Vaccine (Vero Cell) Inactivated (Sinovac, China), VLA2001 (Valneva, Franta).



## Vaccinuri cu proteine sau fragmente de proteine virale :



- **Proteine sau fragmente de proteine virale** considerate relevante sunt produse in sisteme alternative de expresie (celule mamaliene sau de insecte, drojdii, bacterii), purificate si administrate in general in combinație cu un adjuvant.
- Deși deja utilizata pentru vaccinări umane, o asemenea platforma presupune etape dificile de optimizare a expresiei, renaturare si purificării ce întârzie dezvoltarea vaccinului in fazele inițiale.
- Odată pusa la punct, scalarea producției pe o astfel de platforma permite obținerea rapida a unui număr mare de doze (in special ținând cont de multiplele facilități de producție disponibile pentru o asemenea tehnologie).
- Un vaccine pe piață este Nuvaxovid (Novavax) cu vaccin recombinant (proteina Spike), cu adjuvant Matrix-M, (saponine Quillaja formulate cu colesterol și fosfolipide în nanoparticule) iar in evaluare este COVID-19 Vaccine HIPRA (PHH-1V) de producătorul spaniol HIPRA. Recent a fost depusa documentația de autorizare pentru Vidprevtyn (Sanofi Pasteur) dezvoltat de Sanofi/Pfizer-GSK proteina Spike întreaga, produsa in celule de insecte, adjuvantate cu AF03 si AS03). ). Pentru Vidprevtyn atât sistemul de expresie cat si unul dintre adjuvanți (AS03) au fost deja utilizate in vaccinuri umane (antigripal sezonier si pandemic).





## Vaccinuri cu Vectori Virali:



- **Diverse virusuri** (adenovirusuri, virus rujeolos, etc.) **sunt modificate** încât sa nu se poată reproduce in organismul uman in care sunt introduse gene pentru antigenul urmărit. Ajuns in celulele de la locul inoculării virusul **livrează bagajul genetic conducând la producerea antigenului**. Prin faptul ca antigenul este produs chiar de către celulele organismului mecanismele de generare a răspunsului imun sunt **mult mai apropiate de cele induse in urma infecției naturale** decât in cazul vaccinurilor subunitare. Pe de alta parte, infecția virală este însoțită de o reactogenitate mai mare.
- Platforma permite adaptarea rapidă la patogeni diferiți. Vaxzevria este cel dezvoltat de Universitatea Oxford/AstraZeneca bazat pe un adenovirus deficient in replicare (ChAdOx1-S) codificând proteina Spike întreagă a SARS-Cov-2. Similar este COVID-19 Vaccine Janssen - Johnson & Johnson pentru un vaccin bazat pe adenovirus 26, cea folosita de ei pentru singurul vaccin cu vector adenoviral aprobat pentru uz uman (Ebola).



## Vaccinuri ARNm



- Vaccinurile constau în **ARNm** codificând pentru proteine virale, întregi sau fragmente ale acestora, încapsulate în vezicule lipidice pentru a favoriza livrarea în celule.
- Similar cu vaccinurile adenovirale, **antigenul este exprimat într-un context ce seamănă mai mult cu infecția naturală** și favorizează apariția unui răspuns celular. Platforma permite dezvoltarea foarte rapidă a candidaților vaccinali (ARNm este produs prin metode sintetice), dar nu a generat până acum un vaccin aprobat pentru uz uman. Răspunsul imun la ARN și la lipidele purtătoare conduce, la majoritatea candidaților, la **reactogenicitate mare**, dar tolerabilă în studiile clinice. Înregistrate pe piață sunt Comirnaty (BioNTech and Pfizer) și Spikevax Moderna/NIAID (USA). Dintre producătorii majori cu vaccinuri în dezvoltare pe această platformă sunt CureVac (Germania) au început întregirea dar au retras în final documentația.



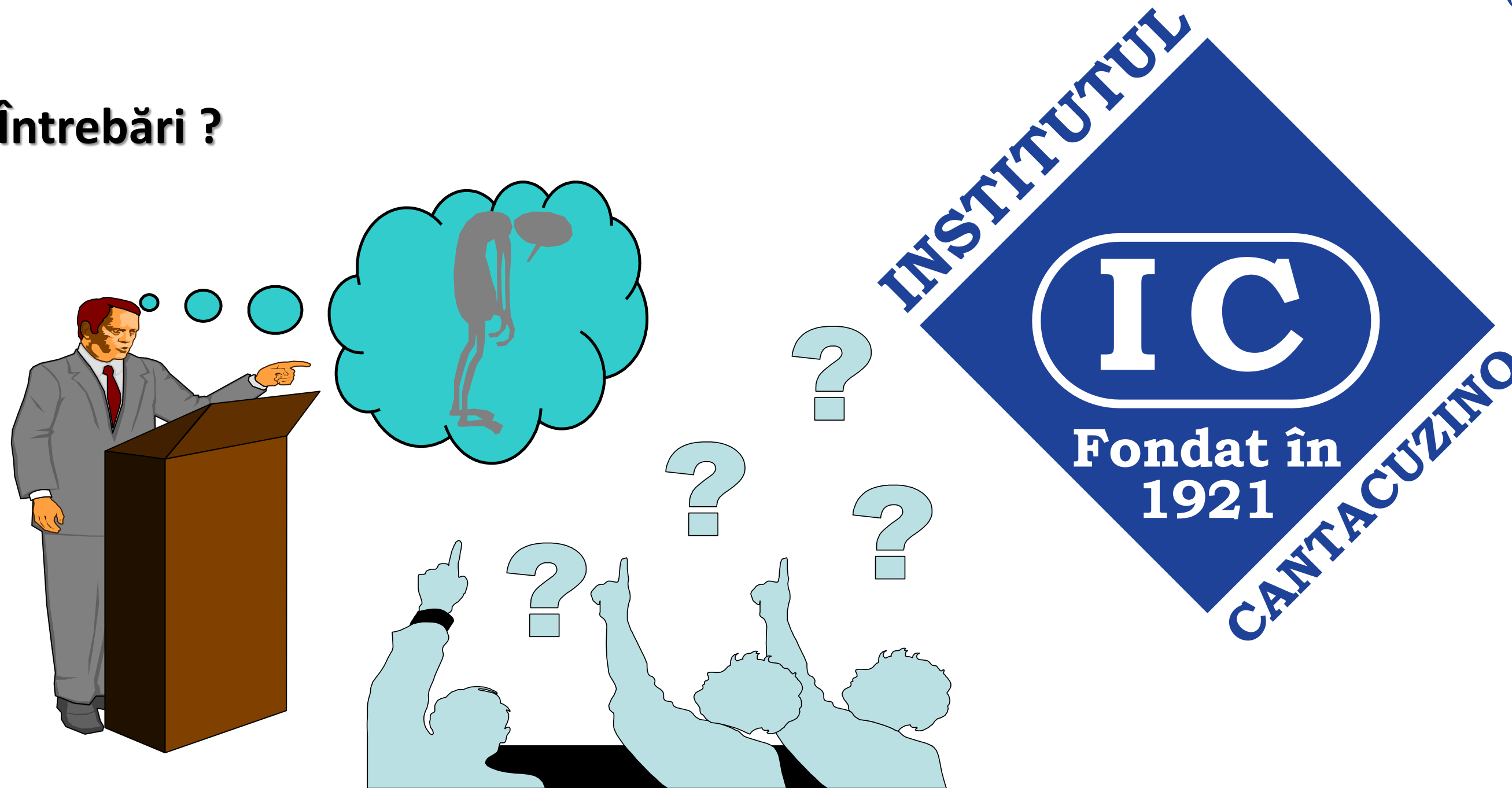
## Responsabilitate socială



- Soluția formală este de a fi pregătit dar, dacă există oportunități mai bune, trebuie să mizăm pe ele, pe cele care asigură maximum de protecție și securitate. Am încercat să fim pregătiți. Am produs două fragmente de virus prin inginerie genetică și le-am testat. Rezultatele au arătat că au declanșat niveluri ridicate de producție de anticorpi în șoarece. Rezultatele sunt promițătoare dar până la dezvoltarea unui vaccin este o cale lungă, cu costuri mari. Soluția este însă ieftină și poate fi explorată în viitor.
- Pregătirea pentru un răspuns în situații deosebite înseamnă totuși maximum de responsabilitate. Indiferent cât ți-ai dori să reușești să fii în prima linie cu un vaccin, ceea ce trebuie să faci în fiecare moment este să fii pregătit cu opțiunea cea mai sigură.
- Opțiunea europeană a fost de a avea vaccin de calitate maximă pentru toate țările europene. În condițiile astea, focalizarea noastră a fost să facem tot ceea ce putem face să ajutam: diagnosticul SARS-CoV-2, proiectul de cercetare pentru monitorizarea prezenței virusului în apele reziduale; parteneriate în cercetare de noi concepte de
- vaccin; consultanță în vaccinologie; stocare și distribuție de vaccin.

Lucrarea a fost realizată în cadrul proiectului PSCD al MApN -  
“Studii în vederea dezvoltării și reluării producției  
de Vaccinuri Gripale”  
(2020-2024)

Întrebări ?



+4 021.3069.100  
+4 021.3069.307



[www.cantacuzino.mapn.ro](http://www.cantacuzino.mapn.ro)



Splaiul Independenței nr. 103,  
Cod 050096, Sector 5, București