

# Progrese în tehnologia de fabricare a vaccinurilor – abordări și reglementare

## ADVANCES IN MANUFACTURING TECHNOLOGY OF VACCINES – APPROACHES AND REGULATION

**Biol. pr. Mirela Tavakol**

*Agenția Națională a Medicamentului și a Dispozitivelor Medicale (ANMDM)*

Vaccinarea a reprezentat pentru omenire un instrument crucial pentru combaterea, ținerea sub control și eradicarea unor boli infecțioase grave. Descoperirea și introducerea practicii vaccinării au însemnat reducerea esențială a mortalității asociate îmbolnăvirilor cu agenții patogeni pentru care au fost obținute vaccinuri. De exemplu, conform datelor Organizației Mondiale a Sănătății (OMS), vaccinurile împotriva tuberculozei, difteriei, tetanosului, pertussis, poliomielitei, rujeolei, hepatitei B și Hib contribuie anual la prevenirea a 2,5 milioane de decese.

### DE LA VACCINURI CONVENȚIONALE LA VACCINURILE MODERNE

Vaccinurile pot fi încadrate în multe tipuri, în funcție de modalitatea de obținere, reflectând evoluția în decursul timpului a tehnologiei de fabricare a vaccinurilor. Astfel, vaccinurile pot conține microorganisme întregi, vii atenuate sau inactivate. Vaccinurile vii atenuate au fost primele vaccinuri utilizate. Acest tip de vaccinuri este obținut prin cultivarea microorganismelor în condiții suboptimale sau prin pasaj succesiv în culturi, tehnici ce determină atenuarea virulenței în condițiile menținerii capacității de a induce răspunsul imun. Este cazul vaccinului poliomielitit (Sabin), tifoidic oral, rujeolă-rubeolă-oreion, vaccinul BCG, vaccinul împotriva febrei galbene etc. Deși caracterizate printr-o eficacitate foarte ridicată, vaccinurile vii atenuate au dezavantajul riscului de apariție a mutațiilor, respectiv de reversie la

virulență, precum și contraindicația în cazul persoanelor imunocompromise.

O altă categorie de vaccinuri o constituie vaccinurile care conțin microorganisme întregi, însă inactivate prin metode chimice sau fizice. Din această categorie fac parte vaccinurile împotriva hepatitei A, vaccinul poliomielitit (Salk), vaccinul gripal etc. Acest tip de vaccinuri are avantajul unei stabilități mai ridicate, însă eficacitatea este mai redusă și necesită rapeluri.

Un alt tip de vaccinuri este cel reprezentat de anatoxine – toxine bacteriene tratate chimic pentru a-și pierde toxicitatea, în contextul menținerii imunogenității. Exemple de anatoxine sunt anatoxina tetanică sau anatoxina difterică.

Deoarece vaccinurile convenționale au ridicat pe parcursul timpului dificultăți determinate în principal de complexitatea preparatului vaccinal utilizat și manifestate prin reacții adverse, s-a impus „rafinarea” tehnologiilor de fabricare a vaccinurilor, în sensul concentrării eforturilor asupra obținerii unor vaccinuri care să conțină antigene înalt purificate, eliminând astfel riscul accidentelor post-vaccinale care decurg din reversia la virulență, a reacțiilor de tip autoimun sau a reacțiilor alergice. De asemenea, dezvoltarea tehnologiilor de fabricare a urmărit cunoașterea la nivel molecular a antigenelor care declanșează răspunsul imun din partea organismului pentru a reproduce prin sinteză unele antigene (vaccinuri

Adresa de corespondență:

Biol. pr. Mirela Tavakol, Agenția Națională a Medicamentului și a Dispozitivelor Medicale (ANMDM), Str. Aviator Sănătescu nr. 48, Sector 1, București

polipeptidice) sau a obține antigene proteice prin tehnologia ADN recombinant.

## VACCINURILE SUBUNITARE

Vaccinurile subunitare conțin exclusiv anumiți determinanți antigenici ai microorganismelor patogene. Vaccinurile subunitare sunt obținute fie plecând de la procese de cultivare convențională, fie prin tehnologia ADN recombinant. Vaccinurile subunitare derivă din vaccinurile conținând agenți infecțioși inactivați, îmbunătățind însă aspectele de eficacitate și siguranță ale acestora din urmă. Determinanții antigenici incluși în vaccin stimulează în mod eficient răspunsul imun, iar prezența unui număr redus de molecule provenite din microorganismul patogen reduce riscul de apariție a reacțiilor adverse. Vaccinurile subunitare conțin în principal structuri de suprafață ale patogenilor, așa cum este cazul vaccinului împotriva hepatitei B, care conține antigenul Australia, antigen de suprafață (AgHBs). Tot antigene de suprafață sunt și hemaglutinina și neuraminidaza, glicoproteine de suprafață conținute în vaccinurile gripale subunitare. Tot structuri de suprafață, însă de natură polizaharidică (antigene capsulare), sunt conținute și în vaccinurile împotriva *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* sau *Neisseria meningitidis*. Deoarece acest tip de structuri sunt slab imunogene, pentru obținerea unor vaccinuri cu eficacitate adecvată, antigenele sunt conjugate cu molecule proteice (de exemplu, cu anatoxină tetanică).

Astfel, una dintre provocările obținerii vaccinurilor moderne este reprezentată de faptul că un nivel înalt de purificare al antigenelor conduce uneori la pierderea imunogenității, necesitând cuplarea cu un *carrier* proteic sau cu o sare de aluminiu. Utilizarea adjuvanților este însă asociată cu apariția reacțiilor locale la locul de vaccinare. De asemenea, durata imunității conferite prin vaccinare este mai redusă decât în cazul vaccinurilor vii.

Vaccinurile obținute prin tehnologia ADN recombinant sunt produse prin modificare genetică, ADN-ul care codifică pentru molecula țintă fiind introdus – de obicei prin intermediul unei plasmide sau a unui vector viral, într-un microorganism sau linie celulară adecvată, în care ADN-ul este exprimat și tradus la proteină. Produsul dorit este ulterior recuperat prin extracție și purificare. În acest mod a fost obținut vaccinul împotriva hepatitei B, pe celule de *Saccharomyces cerevisiae*. Cerințele de calitate pentru vaccinurile obținute prin tehnologia ADN recombinant sunt stipulate în monografia specifică din Farmacopeea Europeană.

Vaccinurile ADN reprezintă cea mai recentă direcție de dezvoltare în fabricarea de vaccinuri. Inocularea intramusculară sau intradermică a vaccinurilor constituite din plasmide ADN conduce la internalizarea ADN-ului în celule, la exprimarea antigenului codificat de acesta și în final la instalarea unui răspuns imun antigen-specific. ADN-ul injectat este reprezentat practic de o plasmidă plus un promotor care asigură sinteza proteinei imunogene.

Până în prezent nu există nici un vaccin ADN de uz uman autorizat, acest tip de vaccin aflându-se încă în investigație clinică. Astfel, se află în dezvoltare vaccinuri ADN în care antigenele ce urmează să fie exprimate de plasmidele obținute prin tehnici de inginerie genetică, aparțin virusurilor gripale, HIV, agentului patogen al tuberculozei, malariei și antigene ale virusului Ebola. Avantajul acestui tip de vaccin rezidă în faptul că stimulează atât imunitatea umorală, cât și cea celulară. De asemenea, acest tip de vaccinuri este stabil și nu impune menținerea în condiții controlate (refrigerat), așa cum este cazul pentru vaccinurile convenționale. Spre deosebire de vaccinurile vii atenuate, în cazul vaccinurilor ADN nu sunt prezente riscurile care decurg dintr-o potențială atenuare neadecvată a tulpinilor vaccinale. Alte avantaje ale acestei noi tehnologii sunt reprezentate de faptul că plasmidele utilizate sunt ușor de fabricat în cantități mari, iar imunitatea conferită este pe termen lung.

Dezavantajele identificate până în prezent în ceea ce privește vaccinurile ADN sunt legate de faptul că acest tip de vaccinuri este limitat la imunogene proteice, dar și de alte potențiale riscuri care urmează a fi evaluate și aduse sub control prin metode specifice (risc mutagen, risc de determinare a rezistenței la antibiotice la recipient etc.).

## REGLEMENTAREA VACCINURILOR

Conform legislației europene în vigoare, următoarele produse pot fi considerate medicamente biologice: proteine recombinante, anticorpi monoclonali, produse derivate din sânge, produse imunologice (vaccinuri, seruri, toxine), alergeni și medicamente obținute prin tehnologii avansate (medicamente pentru terapie genică și terapie celulară). În plus, numeroase alte produse sunt considerate, de asemenea, medicamente biologice, pe baza unor considerente științifice, acestea întrunind criteriile legale ale originii biologice și complexității acestora. CMDh (Grupul de coordonare a procedurilor de recunoaștere mutuală și descentralizată pentru medicamente de uz uman) a elaborat și publicat un

document care listează această categorie de produse tratate în mod inconstant ca produse biologice.

Vaccinurile fac parte din categoria medicamentelor biologice și, în consecință, se supun reglementărilor specifice.

Organismul responsabil pentru autorizarea vaccinurilor obținute prin tehnologia ADN recombinant este Agenția Europeană a Medicamentului (*European Medicines Agency – EMA*). EMA este, între altele, responsabilă pentru autorizarea și a altor medicamente obținute prin procese biotehnologice, așa cum sunt metodele tip hibridoma și de obținere a anticorpilor monoclonali, dar și de expresie controlată a genelor care codifică proteine biologice active în organisme procariote și eucariote, inclusiv celule mamaliene transformate.

Agenția Europeană a Medicamentului este responsabilă pentru evaluarea științifică a medicamentelor dezvoltate de companiile farmaceutice și pentru care se intenționează utilizarea în Uniunea Europeană. Pe site-ul EMA există disponibile ghiduri specifice pentru produsele biologice. În ceea ce privește vaccinurile ADN, există de asemenea disponibile pe site-ul EMA ghiduri specifice, în prezent aflându-se în curs de actualizare ghidul referitor la aspectele de calitate, non-clinice și clinice pentru produsele obținute prin transfer genic (CPMP/BWP/3088/99).

Ghidurile sunt instrumente complementare monografiilor și capitolelor generale ale Farmacopeei Europene sau ale altor farmacopei, constituind instrumentul științific de bază folosit ca referință în scopul asigurării calității medicamentelor. Ghidurile sunt disponibile pe site-urile oficiale ale EMA ([www.ema.europa.eu](http://www.ema.europa.eu)), ale Conferinței Internaționale pentru Armonizare (*International Conference on*

*Harmonization - ICH*) ([www.ich.org](http://www.ich.org)), OMS ([www.who.int](http://www.who.int)) sau în volumul 3A al „*Rules Governing Medicinal Products in the European Union*” – Eudralex.

În plus față de cele menționate, din punct de vedere al asigurării unei calități adecvate a medicamentelor imunologice și a produselor derivate din sânge, aceste categorii de medicamente sunt supuse procedurii de eliberare oficială a seriei (*Official Control Authority Batch Release – OCABR*), procedură aplicată în statele membre ale Uniunii Europene sub coordonarea Directoratului European pentru Calitatea Medicamentului (EDQM). Această procedură presupune verificarea lot de lot, prin testare de laborator, a conformității produsului cu specificațiile aprobate în cadrul autorizării. În același timp, se realizează analiza tendințelor pentru parametrii testați în timpul producției și eliberării seriei. Necesitatea testării suplimentare de către autoritatea competentă a seriilor de produse imunologice și derivate din sânge decurge, esențial, din variabilitatea acestor tipuri de produse, complexitatea procesului de fabricație, dar și a metodelor de control. Aceste aspecte constituie numai o parte din fundamentul procedurii de eliberare a seriei, procedură ce conferă o siguranță suplimentară asupra calității medicamentelor imunologice.

## CONCLUZIE

Progresele remarcabile înregistrate în tehnologia de fabricare a vaccinurilor precum și apariția de noi vaccinuri moderne au impus, între altele, revizuirea abordării din punct de vedere al reglementării vaccinurilor și au deschis noi perspective din punct de vedere al aplicabilității principiilor vaccinării. Introducerea de noi vaccinuri în programele de imunizare naționale s-a reflectat, conform OMS, în datele statistice care demonstrează succesul în ceea ce privește controlul bolilor prevenibile prin vaccinare.

## BIBLIOGRAFIE

1. **V. Lazăr, C. Chifiriuc, R. Cernat, D. Bulai, D. Stewart-Tull.** *Imunobiologie*, Editura Univ. din București, 2006
2. **Jonathan A. McCullers, MD, Jeffrey D. Dunn.** *Advances in vaccine technology and their impact on managed care*, PharmD, MBA, P&T®, Vol. 33 No. 1, January 2008
3. **Christin Andersson.** *Production and delivery of recombinant subunit vaccines*, Department of Biotechnology, Royal Institute of Technology (KTH), Stockholm, Sweden, 2000
4. *Farmacopeea Europeană*, ediția 8.0, 2014, *Products of recombinant DNA technology*, 01/2008:0784.
5. Annex to Regulation (EC) no 726/2004 of the European parliament and of the Council of 31 March 2004 laying down community procedures for the authorisation and supervision of medicinal products for human and veterinary use and establishing a European Medicines Agency, amended.
6. <http://www.ema.europa.eu>
7. [http://ec.europa.eu/health/documents/eudralex/index\\_en.htm](http://ec.europa.eu/health/documents/eudralex/index_en.htm)
8. [http://www.who.int/immunization/monitoring\\_surveillance/routine/coverage/en/](http://www.who.int/immunization/monitoring_surveillance/routine/coverage/en/)