



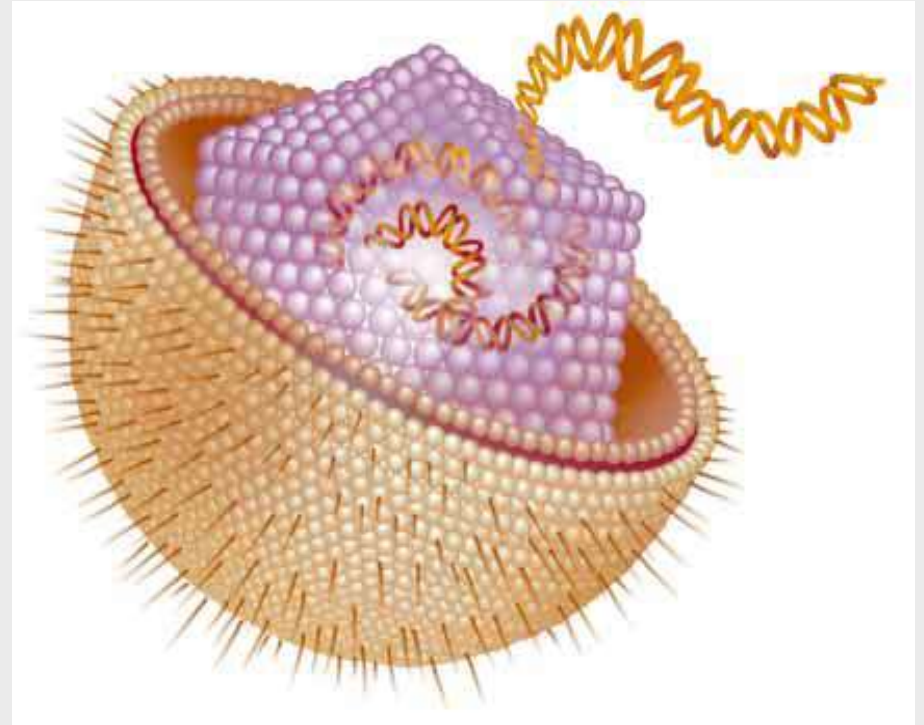
Vacunas recombinantes y su importancia actual

19° Reunión Anual del CONASA

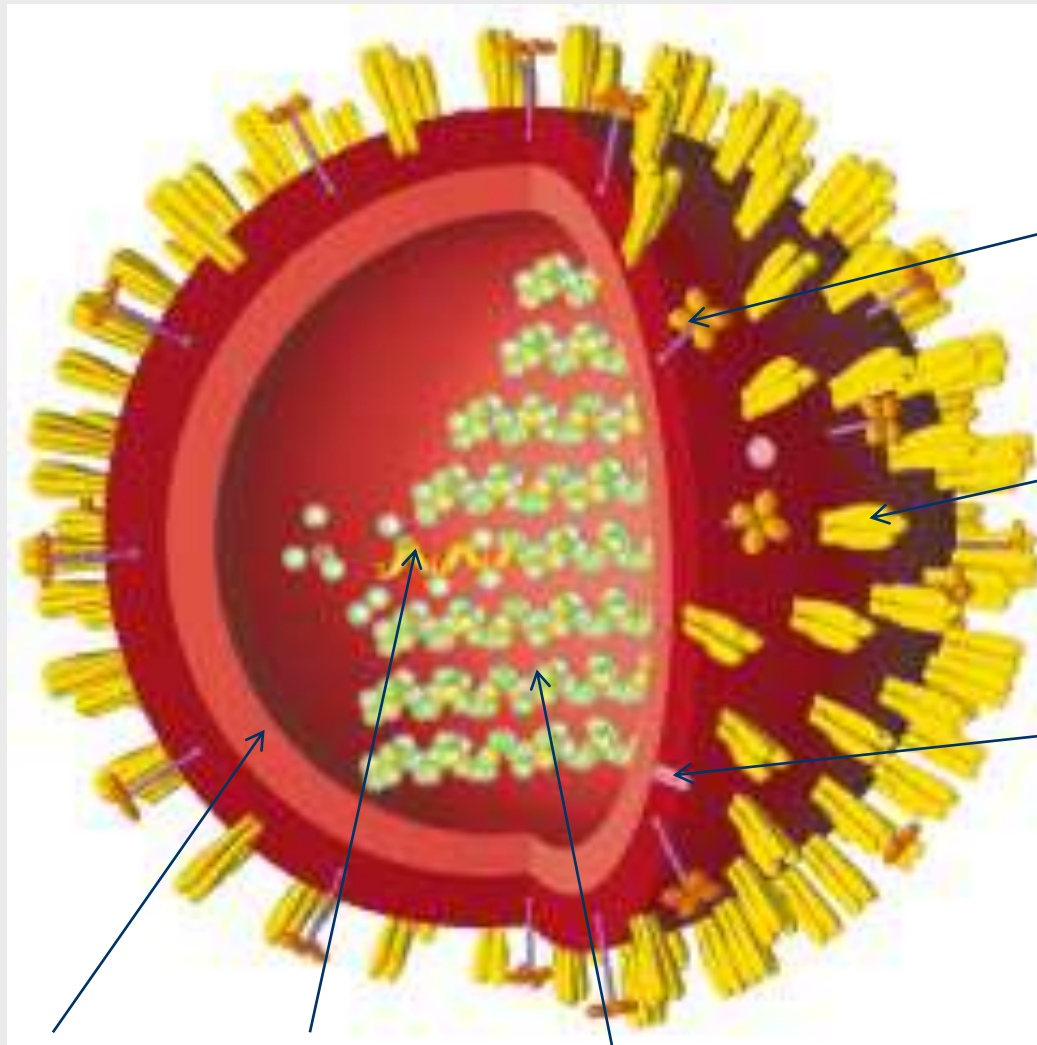
Productos Biológicos y derivados de la Biotecnología

- Inicio y duración de la inmunidad
- Aplicación masiva
- Aplicación a cualquier edad
- Espectro de protección/Protección cruzada (H5N2/H5N1)
- Reducción de la excreción viral
- Combinación con otros antígenos
- Efectiva con inmunidad materna
- Presencia de marcador/ DIVA
- Termo-estabilidad

- Subunitarias
- DNA
- Genética Reversa
- Vectores de expresión



Virus de Influenza



Neuraminidasa

Hemagglutinina

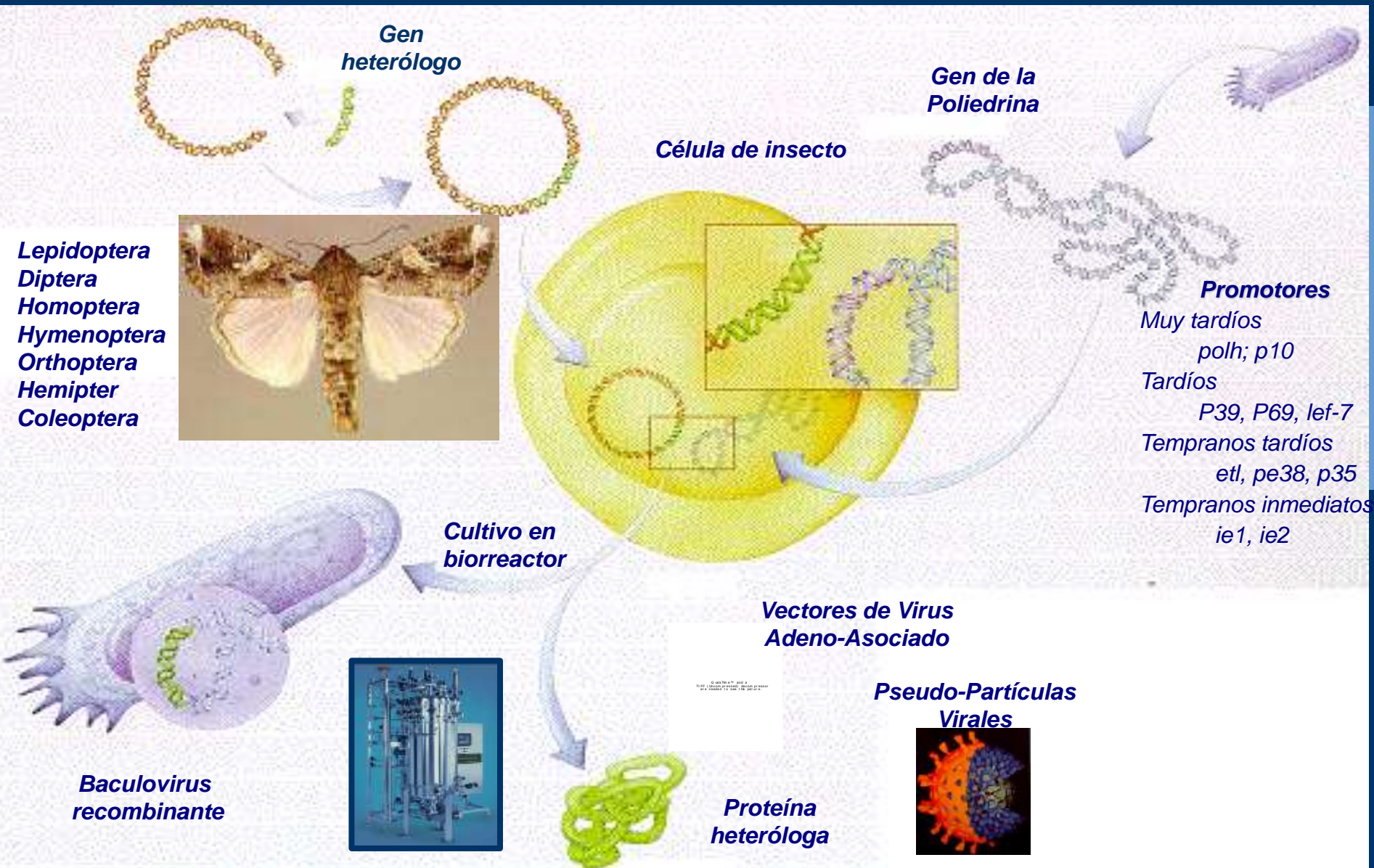
Proteína M2

Matriz

RNA

Nucleoproteína
y polimerasas

Sistema de Expresión en Baculovirus para la producción de proteína recombinante



Sistema de expresión de proteínas derivadas del sistema células de insecto-baculovirus

Ventajas

- No hay manipulación de virus infecciosos
- Alta semejanza con proteínas naturales H5
- Alto/eficiente nivel de expresión
- Correcta estructura 3D
- Corto tiempo para clonar
- Estabilidad genética
- Seguridad
- Aceptación regulatoria
- DIVA
- No huevos embrionados/No líneas celulares

Desventajas

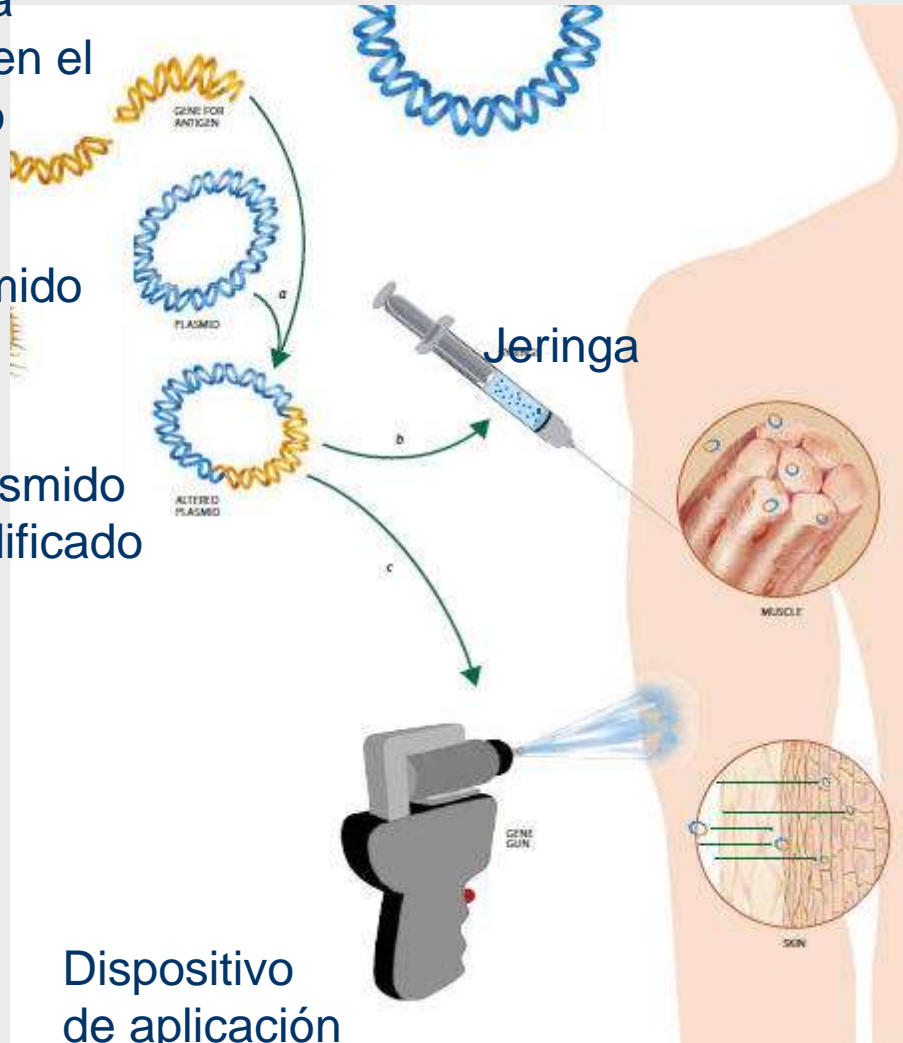
- Baja secreción
- Agregados intracelulares
- Necesidad de purificación
- Adyuvante/inmunoestimulador necesario
- Baja serología

Vacunas a DNA

Gen para
Insertar en el
plásmido

Plásmido

Plásmido
modificado

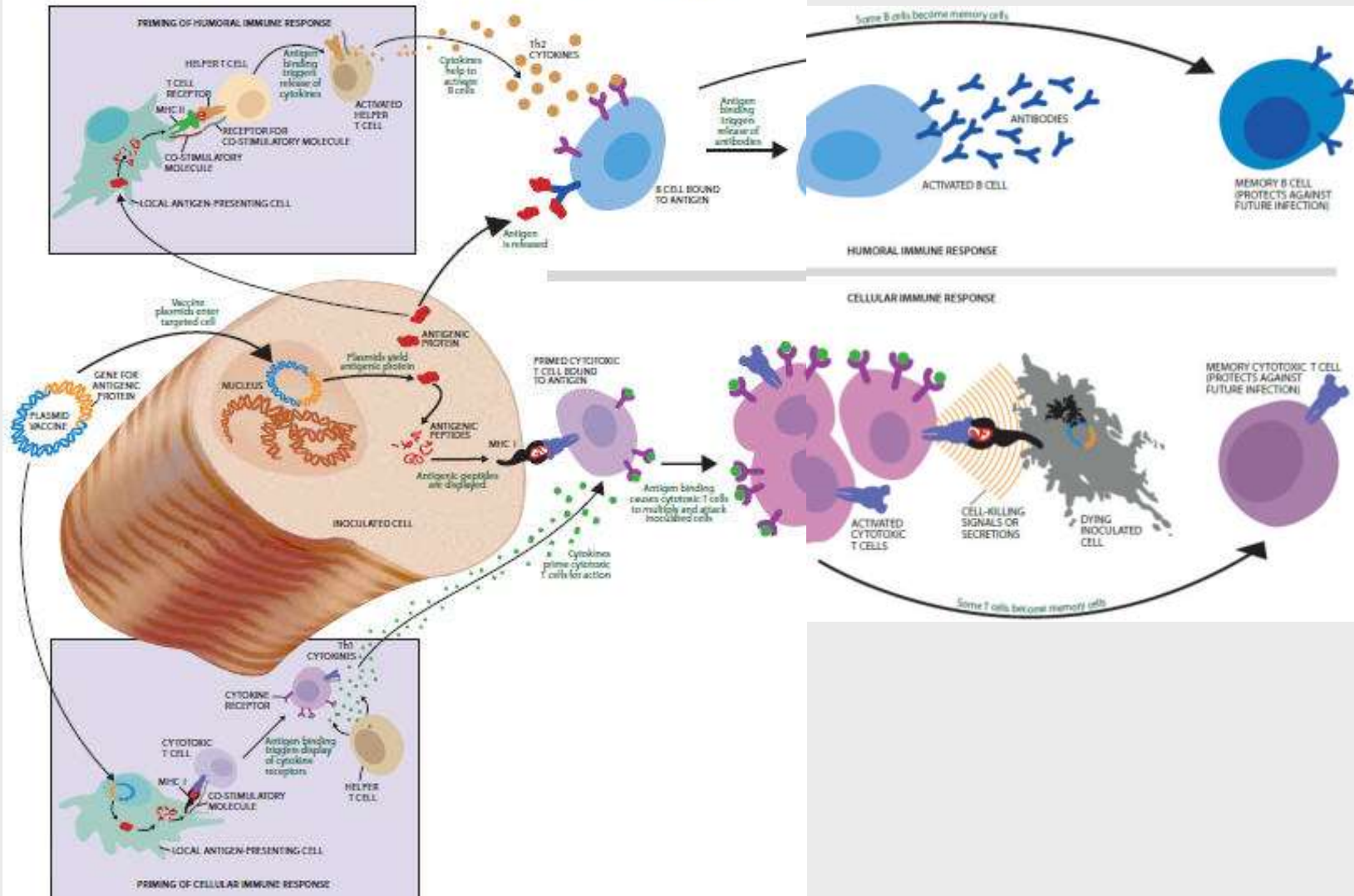


Dispositivo
de aplicación

Músculo

Piel

How DNA Vaccines Work



Introducción directa de DNA para evocar respuesta inmune protectora en el huésped

Ventajas

- Manufactura menos compleja comparada con vacunas inactivadas o recombinantes
- Respuesta inmune celular y humoral
- Facilidad de cambiar la secuencia de la proteína antigénica
- Efectiva contra variantes antigénicas
- DIVA
- No huevos embrionados/No líneas celulares

Desventajas

- Protección inconsistente
- Necesidad de purificación
- Costo de producción/aplicación
- Eficacia dependiente de la dosis
- Alta concentración de DNA para inducir protección
- Títulos serológicos desconocidos
- Seguridad ?
- Aspectos regulatorios

Genética Reversa

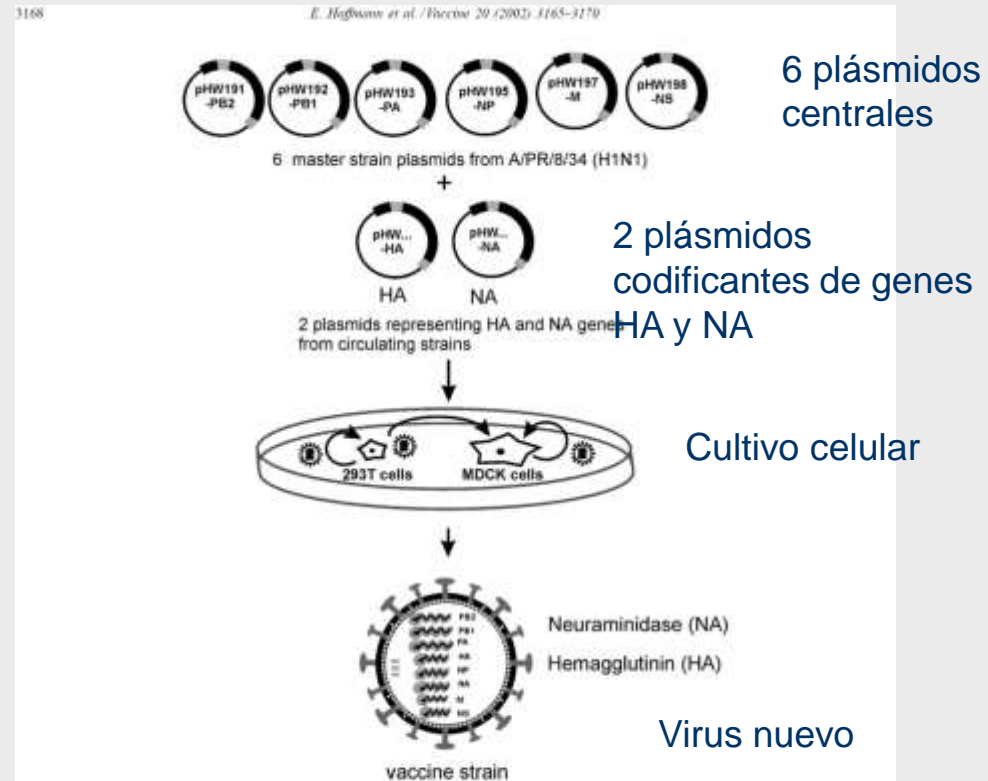


Copias de genes

Plásmidos

Cultivo celular

Virus nuevo



3168

E. Hoffmann et al. / Vaccine 20 (2002) 3165–3170



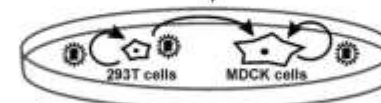
6 plásmidos
centrales

6 master strain plasmids from A/PR/8/34 (H1N1)

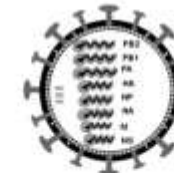


2 plásmidos
codificantes de genes
HA y NA

2 plasmids representing HA and NA genes
from circulating strains



Cultivo celular



Neuraminidase (NA)
Hemagglutinin (HA)

Virus nuevo

vaccine strain

Fig. 1. Eight-plasmid system for rapid generation of reassortant influenza A virus. To test the utility of the eight-plasmid system for generation of reassortant viruses, 293T-MDCK cells were cotransfected with six plasmids representing the A/PR/8/34 (H1N1) master strain and two plasmids representing the desired HA and/or NA subtypes. Influenza viruses were generated within 2–3 days after transfection. Because the viruses were derived entirely from DNA, no selection system was needed to isolate the desired reassortant. The rescued viruses can be used as seed viruses for growth in embryonated chicken eggs.

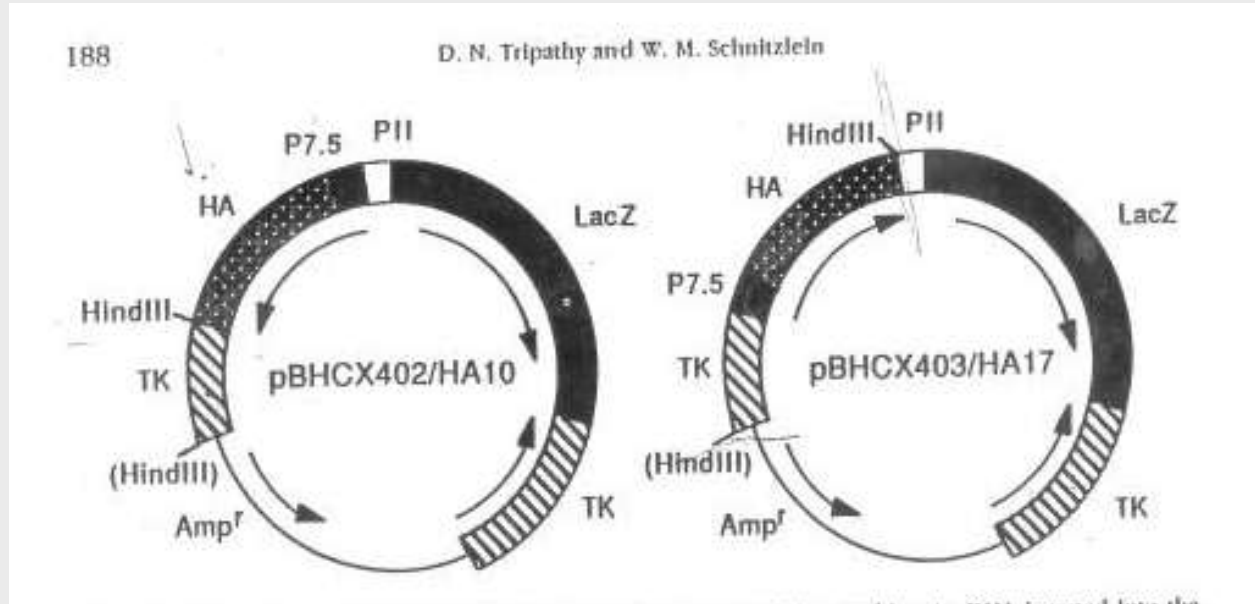
Manufactura a la medida del virus (reassortant) con la combinación deseada de genes

Ventajas

- Rápida generación del virus (reassortant) cepa vacunal
- Posibilidad de producir cualquier combinación (HxNy)
- Alta especificidad. Generación del mismo H5 similar al virus de desafío
- Seguridad (Inactivado)
- Regulatorio
- DIVA

Desventajas

- Bajos niveles de expresión
- Títulos serológicos desconocidos
- Necesidad de huevos embrionados o líneas celulares
- Dependiente de adyuvante
- Seguridad (vivo modificado)
- Estabilidad



Adenovirus
Poxvirus
Herpesvirus (MDV)

Vectores virales vivos construidos para expresar antígenos, por ejemplo HA (H5, H7, H9)

Vector: FPV

Ventajas

- Protección vs. FP y AI
- Inicio de la inmunidad
- Multivalente
- Seguridad
- Estabilidad genética
- Rango de huésped limitado
- Regulatorio
- DIVA

Desventajas

- Inmunidad previa hacia el vector
- Ausencia/bajos títulos serológicos
- Duración de la inmunidad ?
- Necesidad de huevos embrionados o líneas celulares
- Monitoreo en campo ausente (pústulas para FP)

Vectores virales vivos contruidos para expresar antígenos, por ejemplo HA (H5, H7, H9) Vector: NDV, ILTV

Ventajas

- Protección vs. ND and AI
- Aplicación masiva
- Multivalente
- Inicio de la inmunidad
- Duración de la inmunidad
- DIVA

Desventajas

- Inmunidad previa hacia el vector
- Rango de huésped amplio
- Bajos títulos serológicos?
- Estabilidad Genética?
- Seguridad ?
- Regulatorio
- Necesidad de huevos embrionados o líneas celulares

Tecnología de vacunas (IA) y Necesidades de los avicultores

Necesidades no cubiertas	Convencional inactivada	BEST	DNA vacunas	Genética reversa	Vectorizada FP-AI	Vectorizada ND-AI
Rápido inicio de la inmunidad	X	√	√	√	√	√
Larga duración de la inmunidad	√	√	√	√	?	?
Marcador	√	√	√	√	√	√
Aplicación masiva	X	X	?	?	X	√
Aplicación a cualquier edad	√	√	√	√	X	?
Termoestabilidad	X	X	√	?	X	X

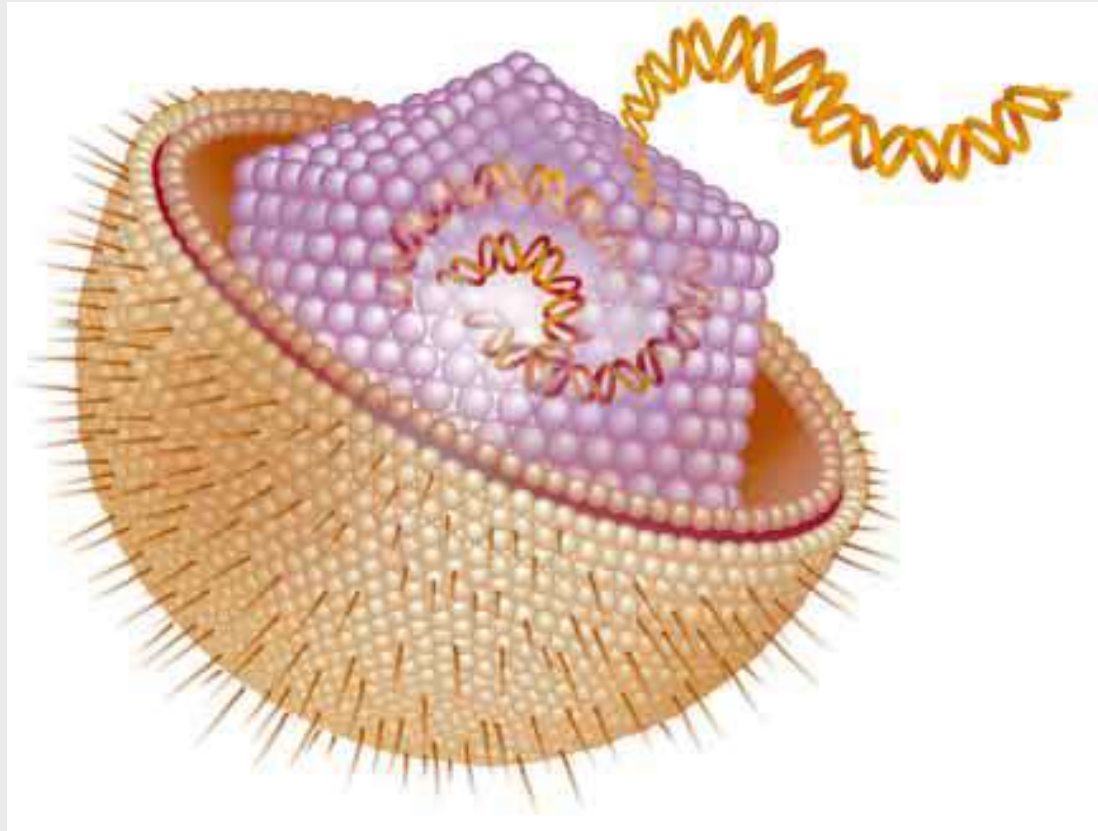
Tecnología de vacunas (AI) y sus características

Característica	Convencional inactivada	BEST	DNA vacunas	Genética reversa	Vectorizada FP-AI	Vectorizada ND-AI
Protección vs. H5N1	√	√	√	√	√	√
Reducción de la excreción viral	√	√	?	√	√	√
DIVA	√	√	√	√	√	√
Combinación con otros antígenos	√	√	?	?	√	√
Efectiva con inmunidad materna	√	√	?	?	√	√

- Las diferentes tecnologías proporcionan soluciones parciales a las necesidades actuales
- La industria debe prepararse con datos experimentales /campo que demuestren la eficacia y seguridad de las vacunas producidas en nuevas plataformas
- Es necesaria información disponible en relación a las cepas prevalentes para identificar los antígenos/proteínas a usar, por ejemplo los serotipos prevalentes
- Es necesaria una definición acerca del uso de antígenos y definir la responsabilidad de un banco de antígenos.
 - Antígenos autorizados y contar con las cepas prevalentes en el campo

- Otros aspectos a considerar en las vacunas con nuevas tecnologías
 - Establecimiento y definición de las pruebas de control de calidad
 - Estandarización de la producción y los tiempos de respuesta para la producción de vacunas con nuevas cepas
- Es necesaria una armonización o acuerdo sobre aspectos regulatorios en las diferentes regiones económicas
- Los acuerdos para el uso de vacunas para el control de enfermedades con potencial de zoonosis basadas en tecnologías diferentes de las convencionales tomarán aún cierto tiempo
- Para establecer acuerdos se necesitará cooperación entre las diferentes partes, la industria avícola, las agencias regulatorias y los productores de vacunas

Gracias por su atención



Carlos González
carlos.gonzalez-hdez@boehringer-ingelheim.com

Virus/blanco (vacuna)

producidas por sistema células de insecto-baculovirus

Dengue

Hepatitis A

Hepatitis D

Influenza (HA)

Influenza (nucleoproteína)

Marbug

SARS

West Nile

Partículas pseudo-virales

Ebola

Lassa

Marburg

Plasmodium falciparum (antígeno fusión c/HBsA)

Plasmodium falciparum

Rift valley fever virus

Rotavirus

SARS

Proteínas Recombinantes



- Producidas con tecnología propia
- Todas cubren requisitos de farmacopeas internacionales
- Todas cubren las NOM

Producto	Activo	Indicaciones
Proquiferón	Interferón Alfa 2a	Leucemia, Cáncer Renal, Hepatitis por virus C
Gramal	Molgramostim	Neutropenia en Cáncer y para Transplante de Médula Ósea
Urifron	Interferón Alfa 2b	Leucemias, Cáncer Renal, Hepatitis por virus C
Bioyetin	Eritropoyetina	Anemia secundaria a insuficiencia renal o cáncer
Filatil	Filgrastim	Neutropenia en Cáncer y para Transplante de Médula Ósea
Probivac-B	Vacuna contra Hepatitis B	Vacunación y tratamiento asociado en pacientes en diálisis
Glinux	Insulina	Diabetes tipo I y tipo II
Uribeta	Interferón Beta 1b	Esclerosis Múltiple Remitente-Recurrente y Secundaria Progresiva
Emaxem	Interferón Beta 1a	Esclerosis múltiple Remitente-Recurrente
Jumtab	Interferón Beta 1a	Esclerosis Múltiple Remitente-Recurrente

Vectores replicativos y no-replicativos

rep.pdf - Adobe Reader

File Edit View Document Tools Window Help

547 (2 of 11) 90% Find

Table 1

Key features of replicating and non-replicating vaccine vectors

Viral vector	Type	Insert	Advantages	Disadvantages
Adenovirus	Non-replicating; ds DNA	7-8 kb	<i>Common features:</i> Targets mucosal inductive sites Infects dividing, non-dividing, and dendritic cells No integration Physically and genetically stable <i>Specific for non-replicating vector:</i> Safe Long history of gene therapy use Multiple serotypes and chimeric forms	Prior immunity to Ad5 High doses needed to elicit immunity
Adenovirus	Replicating ds DNA	3-4 kb	<i>Specific for replicating vector:</i> Common features above Low dose, mucosal delivery Persistent immunity Induction of immune modulators Safe as an oral vaccine	Small insert size Concern for intranasal administration
Adeno-associated virus	Non-replicating; ss DNA	<5 kb	Resistant to acid; physically stable Alternate serotypes available Tropic for dendritic cells Non-pathogenic	Difficult production uses helper virus Possible integration Prior immunity to prevalent AAV2
Alphavirus	Non-replicating; +ss RNA	<8 kb	No integration Does not elicit anti-vector immunity Targets dendritic cells Highly immunogenic	Safety concerns regarding VEE Difficult to produce
Herpesvirus	Non-replicating; ds DNA	<50 kb	Infects many cell types; targets mucosa Durable immunity Induces Th1 responses	Prior immunity Lesser immunogenicity Difficult to manufacture
Measles virus	Replicating; -ss RNA	>5 kb	Persistent immunity Infects dendritic cells, macrophages No integration; genetic stability	Prior immunity
Poxviruses: Vaccinia	Replicating; ds DNA	>10 kb	Excellent immunogenicity with history of eradicating smallpox	Safety concerns in immune compromised
Poxviruses: NYVAC; MVA	Non-replicating; ds DNA	>10 kb	Excellent immunogenicity; more immunogenic than avian poxviruses	Prior immunity
Poxviruses: ALVAC; FPV	Non-replicating; ds DNA	>10 kb	No prior immunity	Less immunogenic than mammalian poxviruses
Vesicular stomatitis virus	Replicating; -ss RNA	>5 kb	No integration; high level expression Ease of production No prior immunity Mucosal administration	Safety; potentially neurovirulent Attenuated forms less immunogenic

Pruebas en humanos de vacunas DNA

Vaccine Objective	Proteins Encoded by Vaccine Genes	Immune Results So Far
Hepatitis B prevention	Hepatitis B surface antigen	Humoral and cellular responses
Herpes simplex prevention	Herpes glycoprotein	Immune analyses in progress
HIV prevention	Envelope and regulatory proteins; or core proteins and enzymes involved in HIV replication	Cellular responses (ultimately, all the genes will probably be tested in one vaccine)
Influenza prevention	Hemagglutinin	Immune analyses in progress (trial has ended)
Malaria prevention	Circumsporozoite protein	Cellular responses
HIV therapy	Envelope and regulatory proteins; or tat, nef and regulatory proteins	Humoral responses in first trial in list (which has ended); cellular responses in other trial
HIV therapy	Envelope, regulatory and core proteins and enzymes involved in HIV replication	Vaccine was combined with aggressive drug therapy (HAART); immune analyses in progress
Therapy for adenocarcinomas of the breast and colon	Carcinoembryonic antigen (CEA)	Cellular responses
Therapy for B cell lymphoma	Immunoglobulin	Humoral responses
Therapy for cutaneous T cell lymphoma (CTCL)	T cell receptor	Immune analyses in progress (trial has ended)
Therapy for prostate cancer	Prostate-specific membrane antigen	Immune analyses in progress

1. West Nile virus infection in horses-USA
2. Canine malignant melanoma-USA
3. Infectious hematopoietic necrosis virus-
Canada