



Paul-Ehrlich-Institut
Bundesamt für Sera und Impfstoffe

Neue pandemische Impfstoffe der 2. Generation und Zellkulturimpfstoffe

Osnabrück 2007

H. Meyer

▶ Allgemein

▶ Saisonale Influenza-Impfstoffe

- Hintergrund, regulatorische Anforderungen und immunologische Bewertung
- Neue Zellkulturimpfstoffe am Beispiel Optaflu

▶ Pandemische Influenza-Impfstoffe

- Hintergrund, regulatorische Anforderungen
- Impfstoffe der ersten und zweiten Generation

Welche Viren verursachen Influenza

Es gibt drei Typen von Influenzaviren

Influenza **A** Virus:

verantwortlich für regelmäßigen Ausbrüche (Epidemien & Pandemien)

Influenza A Viren infizieren auch Haustiere und Wildvögel

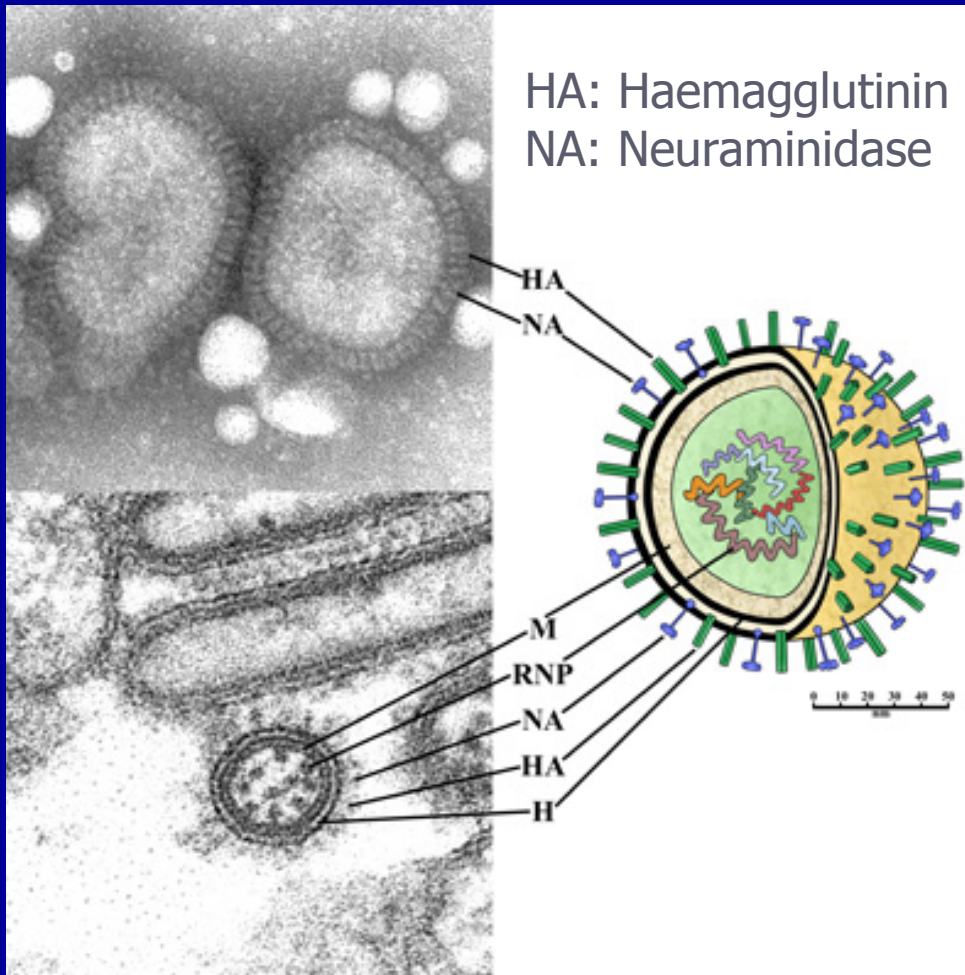
Influenza **B** Virus:

verursacht sporadische Ausbrüche von Erkrankungen
besonders in Pflege- und Altenheimen

Influenza **C** Virus:

häufig, führt aber selten zu schwerwiegenden Krankheitsverläufen

Struktur der Influenzaviren



Klassifikation der Influenza A Viren:

- 15 HA Subtypen in Wildvögeln: alle bei Menschen: H1, H2, H3
- 9 NA Subtypen in Wildvögeln: alle Bei Menschen: N1, N2

Antigendrift der Influenzaviren

- ▶ Eine breite Populationsimmunität, erworben entweder durch natürliche Infektionen oder durch Impfung ist der wichtigste Faktor um die Influenzaaktivität einzudämmen.
- ▶ Es entstehen jedoch immer neue Virusmutanten, die nicht länger von persistierenden Antikörpern erkannt werden.
- ▶ Punktmutationen in Epitopen der HA/NA Moleküle treten bei Influenza A und B Viren auf
- ▶ Die graduelle Anhäufung der geringfügigen antigenen Veränderungen nennt man **Antigendrift**



diese Veränderungen erlauben den Neustart des Infektionszyklus in Personen mit einer schwachen oder keiner spezifischen Immunität. Dies führt zu den jährlich wiederkehrenden Influenzaausbrüchen.

Saisonale Flu Impfstoffe

Aufgrund des Antigendriffs zirkulieren regelmäßig neue Stämme (Driftvarianten eines Subtyps).

Die Impfstämme müssen durch diese neuauftretenden Stämme ersetzt werden, da diese nicht mehr ausreichend durch die Restimmunität der Population kontrolliert werden.

Entsprechend den WHO-Empfehlungen werden jedes Jahr neue Influenzaimpfstoffe ad hoc produziert

Das Hauptziel für die jährliche Influenzaimpfung ist es, die Anzahl der Todesfälle bei Älteren und Risikopatienten zu reduzieren.

Zugelassene saisonale Flu Impfstoffe

- ▶ Trivalente, inaktivierte Impfstoffe
- ▶ Meist Spalt- und Untereinheiten-Impfstoffe, die in embryonierten Hühnereiern hergestellt werden
- ▶ Im Juni 2007 wurde der erste in Zellkultur hergestellte Influenza Impfstoff zugelassen
- ▶ Enthalten 15µg HA pro Stamm der drei aktuell zirkulierenden Stämme *(Saison 2007/2008)*
 - Ein A Stamm des H1N1 Subtyps *(A/Solomon Islands/3/2006)*
 - Ein A Stamm des H3N2 Subtyps *(A/Wisconsin/67/2005)*
 - Ein B Stamm *(B/Malaysia/2506/2004)*
- ▶ Kein Konservierungsmittel, kein Adjuvans (außer Fluad)
- ▶ Einmalige Impfung
- ▶ Empfohlen für Ältere ab 60 Jahren, Risikopatienten, Pflegepersonal

Zulassung saisonaler Flu Impfstoffe

Kerndossier & jährliche Stammanpassung

Erstzulassung wird aufgrund eines Kerndossiers ausgesprochen, das die vollständigen Daten zur Qualität, Wirksamkeit und Unbedenklichkeit einer repräsentativen Impfstoffzusammensetzung enthält.

Die Erstzulassung muss den europäischen Anforderungen für neue Impfstoffe entsprechen.

Neue Zellkulturimpfstoff Optaflu wurde in über 3000 Probanden in klinischen Studien untersucht.

Die jährliche Stammanpassung wird mit einer Änderungsanzeige (Fast track procedure) durchgeführt.

Hierfür muss die konsistente Herstellung des Impfstoffs mit den neuen Stämme gezeigt werden und es muss eine klinische Studie durchgeführt werden

Saisonale Flu Impfstoffe: jährliche Stammanpassung

Klinische Studie,

- ▶ die die Immunogenität des HA des neuen Impfstoffstamms bestätigt
- ▶ die die Verträglichkeit bzw. Häufigkeit von Nebenwirkungen bestätigt
- ▶ Studienpopulation
 - 2 Altersgruppen: 18 - 60 J und > 60 J
 - Mindestens jeweils 50 gesunde Personen pro Gruppe
 - Probanden, die eine Influenza Impfung in den vorangegangenen 6 Monaten erhalten haben, sollten ausgeschlossen werden.

Immunologische Bewertung

Entsprechend europäischem Leitfaden: NfG on harmonisation of requirements for influenza vaccines (CHMP/BWP/214/96)

Drei Parameter definiert

- Anstieg GMT (mittlere geometrische Titer)
- Serokonversionsrate
- Seroprotektionsrate

Immunologische Bewertung

Definition der Serokonversion

- Hämagglutinations-Inhibitionstest (HI)
Vor Impfung <10 / Nach Impfung ≥ 40
Oder mindestens ein 4-facher Titeranstieg
- Single Radial Hemolysis (SRH) Test
Vor Impfung $<4 \text{ mm}^2$ / Nach Impfung $\geq 25 \text{ mm}^2$
Oder mindestens ein 50% Anstieg der Fläche

Immunologisches Korrelat für Seroprotektion

HI Titer ≥ 40 oder SRH $\geq 25 \text{ mm}^2$

Immunologische Kriterien

	18 - 60 Jahre	> 60 Jahre
Serokonversionsrate	> 40%	> 30%
Seroprotektionsrate	> 70%	> 60%
Anstieg des mittleren geometrischen Titers	> 2.5	> 2.0

Erstzulassung: alle 3 Kriterien müssen für beide Altersgruppe erfüllt werden

Für jährliche Stammanpassung: mindestens 1 Kriterium muss pro Altersgruppe erreicht werden

Saisonale Impfstoffe auf Zellkulturbasis

Optaflu:

- ▶ Hergestellt in kontinuierlicher Zelllinie

Madin Darby Canine Kidney (MDCK) Zellen

- ▶ inaktiviert
- ▶ gereinigtes Oberflächenantigen
- ▶ nicht adjuvantiert
- ▶ Zugelassen ab 18 Jahren
- ▶ bisher nicht vermarktet, da Stammanpassung für 2007/2008 bisher noch nicht erfolgt

Optaflu: Zusammensetzung der Impfstoffe, die in klinischen Studien untersucht wurden

Study Number	Influenza Season	Hemisphere	Influenza virus strains						
			A/H1N1	A/H3N2			B		
			A/New Caledonia/20/99 IVR-116	A/Panama/2007/99 RESVIR 17	A/Wyoming/3/2003 IVR-X-147	A/New York/55/2004-X-157	B/Guangdong/120/2000	B/Shangdong/7/97	B/Jiangsu/10/2003
V58P1	2001/2002 ^a	Northern	+	+			+		
V58P2	2003	Southern	+	+				+	
V58P4	2004/2005	Northern	+		+				+
V58P4E1	2005/2006	Northern	+			+			+
V58P9	2005/2006	Northern	+			+			+
V58P5	2005/2006	Northern	+			+			+

Ergebnisse zur Immunogenität in der Altersgruppe 18-60 Jahre

Stammspezifische Anti-HA-Antikörper	A/H1N1 N=650	A/H3N2 N=650	B N=650
Seroprotektionsrate (>70%)	86% (83; 88)	98% (97; 99)	83% (80; 86)
Serokonversionsrate (>40%)	63% (59; 67)	58% (54; 62)	78% (75; 81)
GMR (>2,5)	7,62 (6,86; 8,46)	4,86 (4,43; 5,33)	9,97 (9,12; 11)

Seroprotektion = HI-Titer \geq 40

Serokonversion = vor Impfung negativer HI-Titer und nach Impfung HI-Titer \geq 40;
oder ein 4-facher Titeranstieg

GMR = Verhältnis des mittleren geometrischen Titers vor und nach Impfung.

Ergebnisse zur Immunogenität in der Altersgruppe der über 60-Jährigen

Stammspezifische Anti-HA-Antikörper	A/H1N1 N=672	A/H3N2 N=672	B N=672
Seroprotektionsrate (>60%)	76% (72; 79)	97% (96; 98)	84% (81; 87)
Serokonversionsrate (>30%)	48% (44; 52)	65% (61; 68)	76% (72; 79)
GMR (>2,0)	4,62 (4,2; 5,08)	5,91 (5,35; 6,53)	9,63 (8,77; 11)

Seroprotektion = HI-Titer ≥ 40

Serokonversion = vor Impfung negativer HI-Titer und nach Impfung HI-Titer ≥ 40 ;
oder ein 4-facher Titeranstieg

GMR = Verhältnis des geometrischen Mittels vor und nach Impfung.

Immunogenität: Vergleich zu Ei-Impfstoffen

- ▶ In den klinischen Studien waren bzgl der Immunogenität keine Unterschiede zwischen dem Influenza-Impfstoff in Zellkultur und einem Influenza-Impfstoff auf Eibasis festzustellen.

Nebenwirkungsprofil Optaflu

- ▶ Ergebnisse aus klinischen Studien, bei denen insg. 3.439 Einzeldosen Optaflu verabreicht wurden:
 - 2.366 Erwachsene im Alter 18 - 60 Jahre
 - 1.073 an ältere Personen (ab 61 Jahre)
- ▶ Sehr häufig ($\geq 1/10$)
 - Kopfschmerzen, Erythem, Schmerzen, Unwohlsein, Abgeschlagenheit
- ▶ Häufig $\geq 1/100$ bis $< 1/10$
 - Schwitzen, Myalgie, Arthralgie, Schwellung, Ekchymosen, Verhärtung, Fieber, Schüttelfrost, Gastrointestinale Störungen wie Bauchschmerzen, Durchfall oder Dyspepsie

Unbedenklichkeit: Vergleich zu Ei-Impfstoffen

In klinischen Studien war das Nebenwirkungsprofil von Optaflu vergleichbar mit einem Influenza-Impfstoff auf Eibasis

Influenza Pandemie: Impfstoffentwicklung

Was wissen wir über Influenzapandemien?

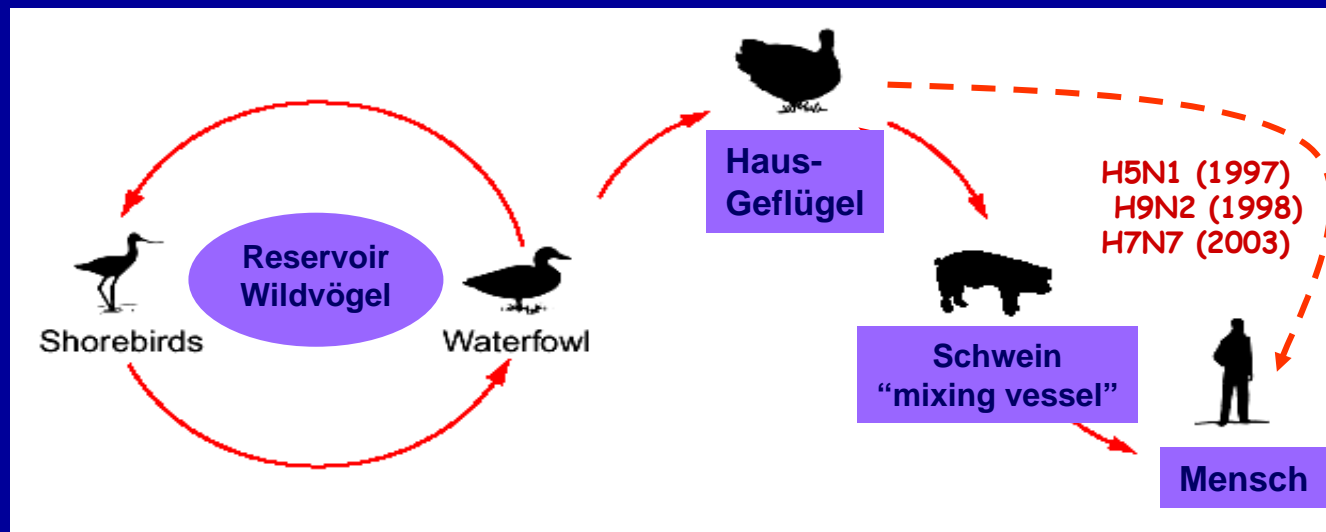
Pandemien treten nach einem Antigenshift auf
Drei Pandemien verursacht durch Influenza A Virus

- ▶ “Spanische Grippe” von 1918 - H1N1 Subtyp
20-40 Millionen Tote
- ▶ “Asiatische Grippe” von 1957 - H2N2 Subtyp
1-4 Millionen Tote
- ▶ “Hong Kong Grippe” von 1968 - H3N2 Subtyp
1-4 Millionen Tote

Antigenshift der Influenzaviren

Neue Influenza A Viren treten auf, die ein neuartiges HA oder NA Molekül tragen, das immunologisch verschieden ist von den bisher zirkulierenden Subtypen (z.B. H2, H5, H7, H9) = **Antigenshift**

Woher kommen diese neuen Subtypen?



Wenn das ursprüngliche Vogelgrippevirus die Eigenschaft der schnellen und globalen **Mensch-zu-Mensch** Übertragung erwirbt, kommt es zur Pandemie

Welcher Subtyp löst die nächste Flu Pandemie aus?

H5N1 wurde im Mai 1997 von einem 3-jährigen Kind in Hong Kong isoliert, das an Influenza verstorben ist.

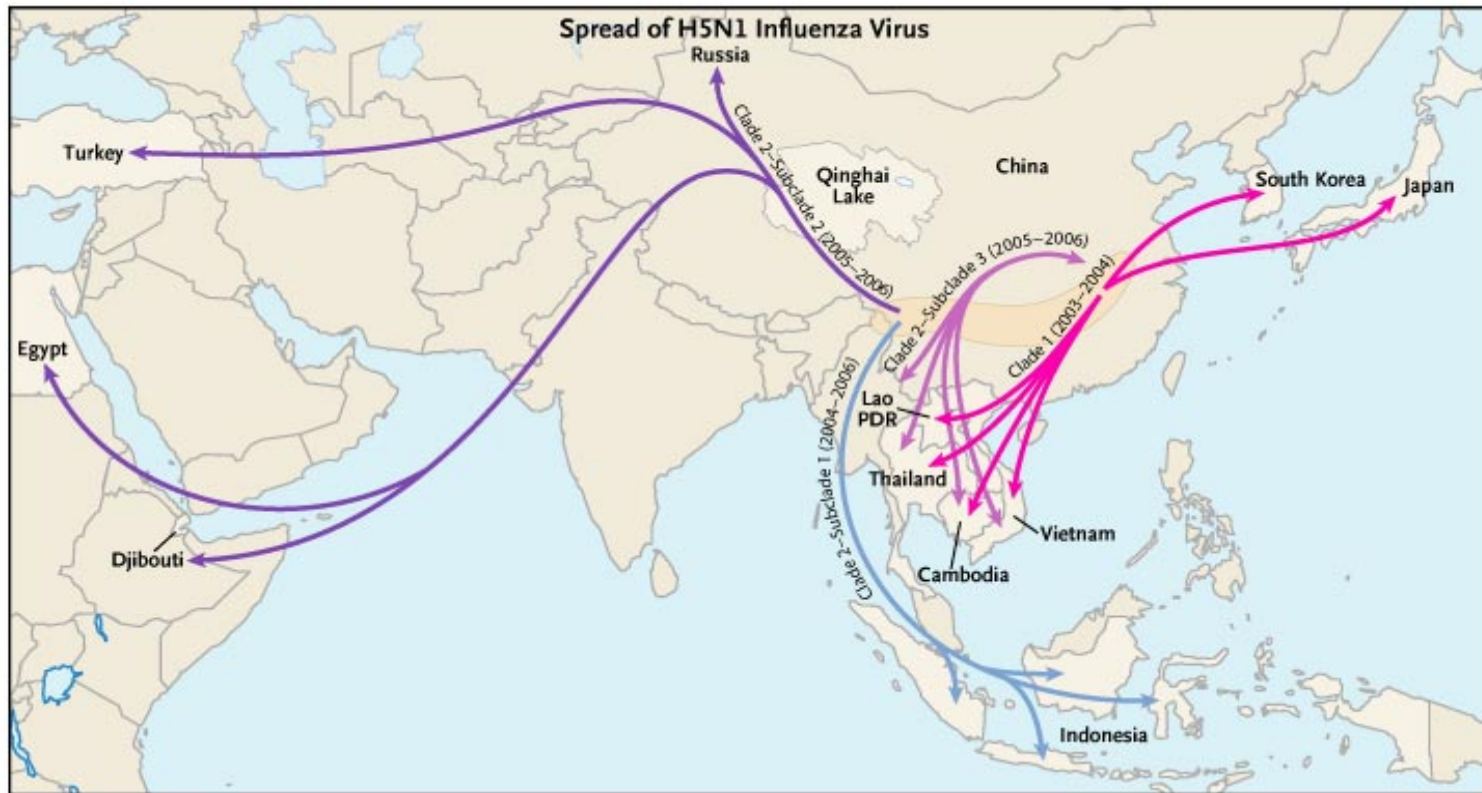
Erster Fall einer H5 Infektion beim Menschen

Bisher 328 bestätigte Fälle einer H5N1 Infektion beim Menschen, davon sind 200 tödlich verlaufen.

H5N1 hat das Potential der nächste Pandemiestamm zu werden, aber auch andere Influenza A Virussubtypen können die nächste Pandemie auslösen.

2003 starb ein Tierarzt nach einer H7N7 Infektion

Auftreten und Geographische Verbreitung verschiedener H5N1 Virusvarianten (Clade)



Flu Pandemie

- ▶ Die Ausbreitung des pandemischen Virus wird in Wellen (eine oder mehrere) erfolgen
- ▶ Klinische Fälle können unterschiedlich sein im Vergleich zu saisonalen Infektionen
- ▶ Die Schwere der Erkrankung kann in verschiedenen Altersgruppen unterschiedlich sein

Sind saisonale Flu Impfstoffe als Pandemieimpfstoffe geeignet?

- Begrenzte Immunogenität gegenüber Driftvarianten
- Vorhandene Restimmunität ist erforderlich für die erfolgreiche jährliche Wiederimpfung
- Eine Dosis ist unzureichend für Grundimmunisierung
- Anzahl der Dosen, die gebraucht würden um eine wirksame Grundimmunisierung in immunologisch naive Personen durchzuführen, ist unbekannt
 - ▶ Höchstwahrscheinlich 3 - 4 Dosen
 - ▶ Ungeeignet als Pandemieimpfstoff

Pandemische Influenza Impfstoffe

- ▶ Verschiedene Entwicklungskonzepte für pandemische Impfstoffe
 - Ganzvirus, adjuvantiert mit Aluminiumverbindung
 - Oberflächenantigen, adjuvantiert mit Öl-in-Wasser-Verbindung
 - Spaltantigen, adjuvantiert mit Öl-in-Wasser-Emulsion
 - Spaltantigen, adjuvantiert mit Aluminiumverbindung
 - Ganzvirus, nicht adjuvantiert
 - Verschiedene Wirtssysteme (Ei, Zelllinien)
 - Verschiedene Stämme (Reassortanten, Wildtyp)
- ▶ Pandemische Influenza Impfstoffe, die in der WHO Phase 6 eingesetzt werden, erhalten eine Mock-up Zulassung
 - Zulassung eines Prototyps,
 - Nach Aktualisierung über eine Änderungsanzeige enthalten sie den tatsächlichen Stamm, der die Pandemie auslöst.

Präklinische Studien

- ▶ Lokale und systemische Verträglichkeit
- ▶ Ausmaß der pharmakologischen Studien hängt von der Art des Impfstoffes ab
 - Neues Adjuvanssystem
- ▶ Immunogenitätsstudien in Mäusen
- ▶ Wirksamkeitsstudien in Frettchen
 - Challengestudien mit einer letalen Dosis eines homologen und heterologen Virusstamm (Driftvarianten)

Präklinische Studien

- ▶ Detaillierte toxikologische Untersuchungen in geeigneten Tiermodellen
- ▶ Potentielle immunopathologische Effekte
- ▶ Inflammatorische Immunantwort
- ▶ Krankheitsverstärkende Effekte

Immunogenität

- ▶ Ziel eines Pandemieimpfstoffs
 - verstärkte Immunantwort
 - reduzierter Gehalt an Antigenen
- ▶ Die Rolle des Adjuvanssystems
 - Öl-in-Wasser-Emulsionen (MF59; AS03) besser als AIOH
- ▶ Die Rolle der Antigenherstellung
 - Immunogenität des Hämagglutinins (HA)
 - ▶ Ganzvirus > Spaltantigen > Oberflächenantigen
- ▶ Der Einfluss des Alters und Gesundheitsstatus

Immunogenität

- ▶ Impfschema passend für pandemisches Szenario
 - Maximum von zwei Dosen
 - Klarer Prime-boost Effekt
 - Verschiedene Impfschematas sollten untersucht werden
 - ▶ z.B 0, 10 Tage versus 0, 60 Tage
- ▶ Qualität der Immunantwort
 - Kreuzreaktivität und Kreuzprotektivität gegenüber Driftvarianten
- ▶ Kinetik und Persistenz der Immunantwort

Unbedenklichkeit

► Mock-up Impfstoffe

- Sehr begrenzte Datenbasis bzgl Nebenwirkungsprofil
- Prüfung beschränkt auf gesunde Erwachsene (18-60 J)
- Nebenwirkungsprofil kann nur mit dem tatsächlichen pandemischen Impfstoff gezeigt werden.
 - Geeignete Risiko-Management- und Pharmakovigilanz-Pläne müssen vorgelegt werden

Pandemieimpfstoffe der ersten Generation

- ▶ Zugelassen: **Daronrix**
- ▶ inaktiviertes Ganzvirus und Aluminiumverbindungen als Adjuvans
- ▶ Hergestellt in embryonierten Hühnereiern
- ▶ enthält 15µg HA Subtyp H5N1
- ▶ Mehrdosenbehältnis mit Thiomersal
- ▶ Studien mit H5N1, H9N2

Daronrix: Ergebnisse zur Immunogenität Altersgruppe 18-60 Jahre

Anti-HA-Antikörper	21 Tage nach der ersten Dosis	21 Tage nach der zweiten Dosis
Seroprotektionsrate	50,0 % (95 % CI: 35,2; 64,8)	70,8 % (95 % CI: 55,9; 83,0)
Serokonversionsrate	47,9 % (95 % CI: 33,3; 62,8)	70,8 % (95 % CI: 55,9; 83,0)
GMR	6 (95 % CI: 3,5; 10,1)	12,4 (95 % CI: 7,1; 21,8)

Pandemieimpfstoffe der ersten Generation

- ▶ Kreuzreaktivität und Kreuzprotektivität gegenüber Driftvarianten nicht gezeigt
- ▶ In Älteren (>60 Jährigen) ist voraussichtlich eine weitere Dosis notwendig

Pandemieimpfstoffe der zweiten Generation

Spalt- oder gereinigtes Oberflächenantigen und neuartiges Adjuvans (MF 59/AS03 = Öl-in-Wasser-Emulsion)

Qualitativ and quantitativ höherwertige Immunantwort nach der ersten und zweiten Teilimpfung.

Immunogenität der Öl-in-Wasser-Emulsionen als Adjuvans ist im Vergleich zu Aluminiumverbindungen wesentlich ausgeprägter.

Deutlicherer Prime-Boost-Effekt, d.h. die Wirkung der zweiten Teildosis ist effektiver.

Pandemieimpfstoffe der zweiten Generation

- ▶ Zugelassen: **Focetria**
- ▶ inaktiviertes gereinigtes Oberflächenantigen und MF59C.1 als Adjuvans
- ▶ Hergestellt in embryonierten Hühnereiern
7,5µg HA Subtyp H5N1
- ▶ Mehrdosenbehältnis mit Thiomersal
- ▶ Studien mit H5N1, H5N3, H9N2

Focetria: Immunogenität

Altersgruppe 18-60 Jahre

Anti-HA Antikörper	22 Tage nach der 1. Dosis	21 Tage nach der 2. Dosis
Seroprotektionsrate	41 % (95 %-KI: 33–49)	86 % (95 %-KI: 79–91)
Serokonversionsrate	39 % (95 %-KI: 31–47)	85 % (95 %-KI: 79–91)
GMR	2,42 (2,02–2,89)	7,85 (6,7–9,2)

Focetria: Immunogenität

Altersgruppe über 60 Jahre

Anti-HA-Antikörper	22 Tage nach der 1. Dosis	21 Tage nach der 2. Dosis
Seroprotektionsrate	53 % (95%-KI: 42–64)	81 % (95%-KI: 71–89)
Serokonversionsrate	45 % (95%-KI: 34–56)	71 % (95%-KI: 60–81)
GMR	2,85 (2,22–3,66)	5,02 (3,91–6,45)

Focetria: Nebenwirkungen

- ▶ Nebenwirkungsprofil vergleichbar mit einem saisonalen Influenza-Impfstoff Flud
- ▶ vorallem nach der ersten Impfung häufiger Lokalreaktionen als bei Impfstoffen ohne Adjuvans

Pandemieimpfstoffe der zweiten Generation

- ▶ Laufendes Zulassungsverfahren:
Pandemrix
- ▶ Inaktiviertes Spaltvirusantigen und AS03 als Adjuvans
- ▶ Hergestellt in embryonierten Hühnereiern
3,75µg HA Subtyp H5N1
- ▶ Mehrdosenbehältnis mit Thiomersal

Pandemieimpfstoffe der zweiten Generation

- ▶ Geplante Zulassung: **Panflucel**
- ▶ Inaktiviertes, gereinigtes Oberflächenantigen und MF59C.1 als Adjuvans
- ▶ Hergestellt in MDCK Zellen
- ▶ Subtyp H5N1, voraussichtlich 7,5µg HA
- ▶ Mehrdosenbehältnis mit Thiomersal