

## **Manifestação do Comitê Científico de Combate ao Coronavírus do Consórcio Nordeste referente a não aprovação pela ANVISA da importação emergencial da Vacina Sputnik V**

**Nordeste, 4 de maio de 2021**

O Comitê Científico do Consórcio Nordeste que, antes da avaliação pública da ANVISA, reviu dados e publicações científicas disponíveis e deu seu aval favorável ao uso da Vacina Sputnik V, produzida pelo Instituto Gamaleya na Rússia (ver anexo I), recebeu com surpresa a decisão do órgão regulatório de não aprovação do pedido da importação em caráter excepcional pelos Estados que integram o Consórcio Nordeste.

No sentido de esclarecer as questões da não aprovação da ANVISA e entendendo a possibilidade de existir diferenças entre a aprovação científica (que inclui a publicação de resultados da avaliação da vacina em revistas científicas de alto impacto) e a decisão regulatória, vem, desde então, na busca compreender as razões colocadas pelos técnicos e diretores da Anvisa para não aprovação e de colaborar no processo de clarificar as dúvidas que justificaram esta opção. Após ter consultado todas as evidências existentes e diversos especialistas, faz as seguintes ponderações:

1. No momento vivemos no curso de uma pandemia que impiedosamente já ceifou a vida de mais de 400.000 brasileiros e brasileiras. Com limitados instrumentos para a redução dos seus danos e sem políticas federais coerentes para o seu controle, as vacinas se colocaram como um recurso importante para amenizar os efeitos devastadores da pandemia. Devido aos reconhecidos erros de decisões em nível federal, a quantidade de vacinas que tem chegado à população brasileira tem sido aquém das expectativas e necessidades. Assim, o Consórcio Nordeste localizou na Vacina Sputnik V a possibilidade de conseguir uma suplementação de imunizantes, que pudesse suprir o déficit existente e, desta forma, acelerar o processo de vacinação. Da negociação ocorrida, foi prevista a aquisição de 37 milhões de doses, com o que seria possível vacinar aproximadamente 18 milhões de brasileiros e brasileiras;
2. Entendemos que a atividade regulatória desenvolvida pela ANVISA é de crucial importância para proteção da sociedade brasileira, porém, entendemos também, que toda decisão no campo regulatório pode e deve ser detalhadamente escrutinada para que se tenha o melhor encaminhamento possível, seja para a questão em causa ou qualquer outra de caráter similar.
3. Entendemos também que qualquer decisão regulatória tem de ser feita no refinado balanço entre benefícios e riscos, já que nenhuma tecnologia, tal qual uma vacina, por mais eficaz que seja, é totalmente desprovida de riscos. Temos acompanhado as discussões sobre os riscos associados a uma das vacinas aprovadas entre nós. Entretanto, os reguladores de muitos países onde estes

eventos adversos foram registrados têm recomendado a continuidade do seu uso, tendo em vista os imensos benefícios que gera

4. A documentação apresentada pelo Instituto Gamaleya em resposta aos questionamentos da Anvisa nos dias 28/04/2021 (Anexo II) e as complementações apresentadas no dia 03/05/2021 (Anexo III) nos pareceu responder grande parte dos questionamentos feitos pela ANVISA, inclusive com relação a suposta replicação do Adenovirus.
5. Como a questão da suposta replicação de um dos Adenovírus utilizados da produção da vacina foi questão crucial para a decisão da Agência, além das respostas apresentadas pelo Instituto Gamaleya, o Comitê solicitou parecer do Professor Amilcar Tanuri, Professor Titular da UFRJ e reconhecido virologista de reputação internacional. Seu parecer (anexo IV) faz recomendações claras em favor do uso da vacina e que também poderiam minimizar qualquer risco relacionado à replicação viral se, porventura, este exista na vacina em análise.

Em conclusão, a vacina Sputnik V que teve sua eficácia e segurança analisadas e escrutinados em testes clínicos publicados em revistas de alto nível mostrando uma eficácia de 91.6% e um ótimo perfil de efeitos adversos, teve estes resultados questionados pela ANVISA, que argumentou que ela não atendeu à aspectos regulatórios. Tendo em vista as decisões positivas deste Comitê baseados nas evidências científicas existentes, na documentação apresentada pelo Instituto Gamaleya em resposta aos questionamentos da ANVISA e o parecer de especialista em anexo, e nos enormes benefícios que a vacina Sputnik V pode vir a ter para a população brasileira, acreditamos que está nas mãos da Agência, agora em posse de novas evidências e esclarecimentos, reavaliar a real existência dos riscos por ela apresentados para a sua decisão e, com a celeridade que a saúde da população brasileira requer, apresentar as suas respostas.

---

***Consórcio Nordeste: Comitê Científico de Combate ao Coronavírus***

***Coordenação:*** Carlos Gabas e Sergio Rezende.

***Membros:*** Adélia Carvalho de Melo Pinheiro (BA); Fábio Guedes Gomes (AL); José Antônio Aleixo da Silva (PE); José Noronha (PI); Luiz Cláudio Arraes de Alencar (PE); Marcos Pacheco (MA); Maurício Barreto (BA); e Sinval Pinto Brandão Filho (PE).

***Subcomitê de Vacinas***

*Sinval Brandão Filho (coordenador), Carlos Costa, Eduardo Jorge Fonseca, Ernesto Marques Jr, Rafael Dhalia, e Ivo Castelo Branco*

**Informações:**

WhatsApp: (15) 98127-8313;

E-mail: contato@consorcionordeste-ne.com.br

## ANEXO I (de 26 de abril de 2021)

### **Comitê Científico recomenda importação e uso da vacina SPUTNIK-V pelos Estados do Nordeste**

As vacinas continuam sendo as grandes esperanças do combate à pandemia COVID-19, que já levou a mais de 3,5 milhões de mortes desde o seu início. A disponibilização de vacinas para uso de forma emergencial representa uma mudança fundamental na trajetória tradicional de liberação de imunizantes, que, tradicionalmente, levam em média mais de 10 anos para sua implementação. Além disso, novos paradigmas foram necessários, envolvendo adaptações nas fases de desenvolvimento, processos regulatórios e capacidade de fabricação em larga escala devido a gravidade da pandemia

Uma das maiores agências regulatórias em saúde, a americana Food and Drug Administration (FDA) declarou, em junho de 2020, que para a aprovação de uma vacina deve haver comprovação de redução da ocorrência e gravidade da doença em pelo menos 50% dos pacientes. A Organização Mundial da Saúde (OMS) também estabeleceu estes limites para liberação das vacinas COVID.

Os ensaios clínicos de fase 3 têm como desfecho principal a avaliação de eficácia do produto, através de estudos controlados, randomizados, envolvendo milhares de pacientes. Após a publicação desses dados, a vacina candidata é submetida à avaliação pelas agências reguladoras, para posterior produção e distribuição. Por fim, os estudos de fase 4, ou de pós-licenciamento, estimam os efeitos e eventos adversos após a utilização da vacina em larga escala na população alvo.

A maioria das vacinas para a COVID-19 disponíveis atualmente induzem anticorpos neutralizantes contra as subunidades virais, a maioria delas tendo como alvo a região RBD (do inglês domínio de ligação do receptor) da proteína mais antigênica do vírus, a *Spike (S)*, impedindo assim, a captação do vírus pelo receptor ACE2 (enzima conversora da angiotensina 2) humano. O surgimento de novas variantes tem assumido um papel relevante nas discussões, em função de seu potencial de escape da resposta imune induzida pela infecção natural ou pela imunização e será fundamental com qualquer vacina autorizada o monitoramento da efetividade e dos eventos adversos após o uso em larga escala.

Temos em uso no mundo três vacinas que utilizam a tecnologia de vetores virais com adenovírus não replicantes. Podem ser humanos (Ad5 e Ad26) ou símios (Chimpanzés ChAd).

A vacina ChAdOx1 nCoV-19, desenvolvida na Universidade de Oxford, na Inglaterra, em parceria com o laboratório AstraZeneca, induz robusta resposta imune, incluindo resposta celular, após a aplicação de duas doses e teve sua aprovação para uso emergencial no Brasil.

**COMITÊ CIENTÍFICO**  
*Consórcio Interestadual de Desenvolvimento Sustentável do Nordeste*  
– Consórcio Nordeste –

**COMITÊ CIENTÍFICO**  
*Consórcio Interestadual de Desenvolvimento Sustentável do Nordeste*  
– Consórcio Nordeste –

A vacina do laboratório americano Johnson&Johnson também utiliza o Ad26. Estudo de fase 3 mostrou que a vacina Janssen é segura e efetiva na prevenção de COVID em adultos com uma única dose em conservação tradicional.

Também com a tecnologia de vetores virais temos a vacina produzida pelo Instituto Gamaleya, de Moscou, a Sputnik V. A vacina utiliza como vetores virais o Ad26 na primeira e o Ad5 na segunda dose.

O Consorcio Nordeste e os nove governos estaduais que o integram, extremamente preocupados com as dificuldades de disponibilidade de vacinas para o Brasil, conseguiu avançar na negociação de doses deste Instituto para o país e aguarda a aprovação da ANVISA para que possamos contar com mais uma opção de vacina.

Os estudos publicados de fase 2 da vacina Sputnik-V testaram duas formulações baseadas em dois subtipos do adenovírus e todos os participantes produziram anticorpos contra a glicoproteína do SARS-CoV-2, com uma taxa de soroconversão de 100% após 42 dias da aplicação. Também foi avaliada a resposta celular no 28º dia, com detecção de proliferação de linfócitos T CD4 e CD8 em todos os estudados.

O estudo de fase 3 teve como desfecho primário analisar a proporção de participantes com COVID-19 confirmado por PCR a partir do dia 21 após receber a primeira dose, mostrou que dos 14.964 participantes no grupo da vacina, 16 (0,1%) tiveram a doença, comparando com 62 (1,3%) dos 4.902 no grupo do placebo. A Eficácia da vacina foi de 91,6% (IC 95% 85,6–95,2), e já está aprovada e em uso em diversos países. A Argentina e a Hungria já anunciaram resultados iniciais de efetividade com esta vacina e foram bastante promissores. Na Hungria, onde foram administradas mais de 200 mil doses, a resposta desta vacina foi superior a de outras plataformas. O monitoramento de eventos adversos na Argentina comprovou os dados do estudo de fase 3, onde a maioria dos eventos adversos foram considerados leves, tornando a possibilidade de o Brasil contar com uma vacina imunogênica e segura.

Diante desta pandemia, não podemos deixar que entraves burocráticos prejudiquem o acesso da população a uma vacina que comprovou sua eficácia, segurança e com real garantia de disponibilidade, como a Sputnik-V, pelo esforço do Consorcio Interestadual de Desenvolvimento Sustentável do Nordeste.

#### **Referências:**

01. Gao Q, Bao L, Mao H, et al. Rapid development of an inactivated vaccine candidate for SARS-CoV-2. *Science*. 2020:eabc1932.
02. World Health Organization (WHO). COVID-19 situation dashboard of World Health Organization. 2021. Disponível em <https://covid19.who.int/> Acessado em abril 2021.
03. Yamey G, Schaferhoff M, Hatchett R, et al. Ensuring global access to COVID-19 vaccines. *Lancet*. 2020;395(10234):1405-1406.
04. Lurie N, Saville M, Hatchett R, Halton J. Developing Covid-19 Vaccines at Pandemic Speed. *N Engl J Med*. 2020;382(21):1969-1973.
05. Sharpe HR, Gilbride C, Allen E, et al. The early landscape of coronavirus disease 2019 vaccine development in the UK and rest of the world. *Immunology*. 2020;160(3):223-232.

**COMITÊ CIENTÍFICO**  
**Consórcio Interestadual de Desenvolvimento Sustentável do Nordeste**  
**– Consórcio Nordeste –**

**COMITÊ CIENTÍFICO**  
**Consórcio Interestadual de Desenvolvimento Sustentável do Nordeste**  
**– Consórcio Nordeste –**



06. Thanh Le T, Andreadakis Z, Kumar A, et al. The COVID-19 vaccine development landscape. *Nat Rev Drug Discov.* 2020;19(5):305-306.
07. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Biologics Evaluation and Research. Development and Licensure of Vaccines to Prevent COVID-19. 2021. Disponível em <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/development-and-licensure-vaccines-prevent-covid-19> Acessado em abril 2021.
08. Stevanim LF. Como nasce uma vacina. *Radis - Fiocruz* 2020;2016:18-19.
09. Mukherjee R. Global efforts on vaccines for COVID-19: Since, sooner or later, we all will catch the coronavirus. *Journal of biosciences.* 2020;45(1).
10. Caddy S. Developing a vaccine for covid-19. *BMJ.* 2020;369:m1790.
11. Krammer F. SARS-CoV-2 vaccines in development. *Nature.* 2020;586(7830):516-527.
12. Folegatti PM, Ewer KJ, Aley PK, et al. Safety and immunogenicity of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine against SARS-CoV-2: a preliminary report of a phase 1/2, single-blind, randomised controlled trial. *Lancet.* 2020;396(10249):467-478.
13. Voysey M, Clemens SAC, Madhi SA, et al. Safety and efficacy of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine (AZD1222) against SARS-CoV-2: an interim analysis of four randomised controlled trials in Brazil, South Africa, and the UK. *Lancet.* 2021;397(10269):99-111.
14. Ramasamy MN, Minassian AM, Ewer KJ, et al. Safety and immunogenicity of ChAdOx1 nCoV-19 vaccine administered in a prime-boost regimen in young and old adults (COV002): a single-blind, randomised, controlled, phase 2/3 trial. *Lancet.* 2021;396(10267):1979-1993.
15. Souza WM, Amorim MR, Sesti-Costa R, et al. Levels of SARS-CoV-2 Lineage P.1 Neutralization by Antibodies Elicited after Natural Infection and Vaccination [Preprint]. *Lancet.* 2021.
16. Janssen Investigational COVID-19 Vaccine: Interim Analysis of Phase 3 Clinical Data Released. 2021. Disponível em <https://www.nih.gov/news-events/news-releases/janssen-investigational-covid-19-vaccine-interim-analysis-phase-3-clinical-data-released#:~:text=An%20investigational%20COVID%2D19%20vaccine,The%20vaccine%2C%20called%20Ad> Acessado em abril 2021.
17. Zhu FC, Li YH, Guan XH, et al. Safety, tolerability, and immunogenicity of a recombinant adenovirus type-5 vectored COVID-19 vaccine: a dose-escalation, open-label, non-randomised, first-in-human trial. *Lancet.* 2020;395(10240):1845-1854.
18. Logunov DY, Dolzhikova IV, Zubkova OV, et al. Safety and immunogenicity of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine in two formulations: two open, non-randomised phase 1/2 studies from Russia. *Lancet.* 2020;396(10255):887-897.
19. Science Brief: Emerging SARS-CoV-2 Variants. 2021. Disponível em <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/more/science-and-research/scientific-brief-emerging-variants.html> Acessado em abril 2021.

#### **Comitê Científico do Nordeste**

*Coordenação: Sergio Rezende e Carlos Gabas*

*Membros: Adélia Carvalho de Melo Pinheiro (BA); José Noronha (PI); Luiz Cláudio Arraes de Alencar (PE); Sinval Brandão Filho (PE); Marco Aurélio Góes (SE); Marcos Pacheco (MA); Maurício Barreto (BA); Priscilla Karen de Oliveira Sá (PB); e Fábio Guedes Gomes (AL).*

#### **Subcomitê de Vacinas - Comitê Científico do Nordeste**

*Sinval Brandão Filho, Eduardo Jorge Fonseca, Rafael Dhalia, Ernesto Marques Jr, Carlos Costa e Ivo Castelo Branco*

Informações:

WhatsApp: (15) 98127-8313

E-mail: [comunica.nordeste@consorcionordeste.com](mailto:comunica.nordeste@consorcionordeste.com)

## ANEXO II (Declaração do Instituto Gamleya)

MINISTRY OF HEALTH OF THE RUSSIAN FEDERATION



Federal State Budgetary Institution  
N. F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology  
and Microbiology of the Ministry of Health of the Russian  
Federation  
(FSBIN.F. Gamaleya NRCEM of the Ministry of Health of  
Russia)

123098, Moscow, Gamaleya str., 18

Tel.: 8 499-193-30-01

Fax: 8 499-193-61-83

26.03.2021 No.

<http://www.gamaleya.org>

E-mail: [info@gamaleya.org](mailto:info@gamaleya.org)

On No. \_\_\_\_\_ of \_\_\_\_\_

### ВСЕМ ЗАИНТЕРЕСОВАННЫМ

Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи сообщает о том, что принятая для вакцины «Гам-Ковид-Вак» норма допуска по RCA (Replication-competent adenovirus) составляет не более 100 RCA на дозу. При этом данное значение согласовано Российскими регуляторными органами и безопасность вакцинного препарата, с таким значением допуска по RCA подтверждена проведенными доклиническими и клиническими исследованиями, а также подтверждается в ходе массовой вакцинации населения. Дополнительно сообщаем, что при выпуске вакцинного препарата на площадке Центра и на контрактной площадке АО «Генериум» не было зафиксировано ни одной серии, содержащей RCA.

Директор ФГБУ  
«НИЦЭМ им. Н.Ф.Гамалеи»  
Минздрава России



А.Л. Гинцбург

MINISTRY OF HEALTH OF THE RUSSIAN FEDERATION



**Federal State Budgetary Institution  
N. F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology  
and Microbiology of the Ministry of Health of the Russian  
Federation**  
(FSBIN.F. Gamaleya NRCEM of the Ministry of Health of  
Russia)

123098, Moscow, Gamaleya str., 18

Tel.: 8 499-193-30-01

Fax: 8 499-193-61-83

26.03.2021 No.

<http://www.gamaleya.org>

On No. \_\_\_\_\_ of \_\_\_\_\_

E-mail: [info@gamaleya.org](mailto:info@gamaleya.org)

**TO WHOM IT MAY CONCERN**

The Federal State Budgetary Institution N. F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology of the Ministry of Health of the Russian Federation informs that the RCA (Replication-competent adenovirus) tolerance standard for the Gam-Covid-Vac vaccine is no more than 100 RCA per dose. At the same time, this value has been agreed by the Russian regulatory authorities and the safety of the vaccine preparation, with such a tolerance value according to RCA, is confirmed by conducted preclinical and clinical studies, and is also confirmed in the course of mass vaccination of the population. In addition, we would like to inform you that during the release of the vaccine product at the Center site and at the contract site of JSC Generium, not a single batch containing RCA was recorded.

  
\_\_\_\_\_  
**Professor Alexander Leonidovich Gintsburg**

Director of the National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation

ANEXO III (Nova declaração do Instituto Gamaleya)

MINISTRY OF HEALTH OF THE RUSSIAN FEDERATION



Federal State Budgetary Institution “National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F.Gamaleya”  
of the Ministry of Health of the Russian Federation  
(N.F.Gamaleya NRCEM)

18 Gamaleya Street  
Moscow, 123098  
Russian Federation

Tel: 8 499-193-30-01  
Fax:8 499-193-61-83

www.gamaleya.org  
e-mail: info@gamaleya.org

---

May 3, 2021

**To Antonio Barra Torres, President-Director  
Brazilian Health Regulatory Agency (ANVISA)**

Following the letter from União Química dated April 28, 2021, the Federal State Budgetary Institution N. F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology of the Ministry of Health of the Russian Federation (“Gamaleya Center”) herewith would like to respond to ANVISA’s allegations about the Sputnik V vaccine that have been made in public throughout the week of April 26<sup>th</sup>, specifically during the public meeting of ANVISA on April 26 and the press conference of ANVISA on April 29, which caused significant harm to reputation of Gamaleya Center and Sputnik V vaccine.

1. «Replicant adenovirus detected in all the Sputnik vaccine’s batches presented to component II (Ad5): probable recombination. Component I (Ad26) it is not evaluated regarding replicant adenovirus» (Presentation from ANVISA public meeting on April 26, 2021).  
«The data we evaluated shows the presence of replicating virus» (Gustavo Mendes, General manager of medicines and biological products at ANVISA during the press conference on April 29, 2021).



### **Gamaleya Center's Response**

- ANVISA could not conduct tests of the Sputnik V batches for the presence of RCA because no vials were ever provided to ANVISA. At its press conference on April 29, ANVISA corrected its position by saying it had not carried out its own testing and did not find any RCA, but was concerned about the Russian theoretical regulatory limit for that parameter.
- In fact, the Gamaleya Center had communicated that no RCA had ever been detected in Sputnik V vaccine to ANVISA before in its official letter dated March 26, 2021, which says clearly that «In addition we would like to inform you that during the release of the vaccine product at the Center site and at the contract site of Generium, not a single batch containing RCA was recorded» (please see the letter in Appendix # 1).
- Existing double quality controls carried out by Gamaleya Center and by the National State Laboratory of the Russian Federation (Roszdravnadzor, [roszdravnadzor.gov.ru](http://roszdravnadzor.gov.ru), an independent institution like ANVISA) have not detected any RCA in Sputnik V vaccine (please see the respective letter from Roszdravnadzor in Appendix # 3). Control for RCA is carried out not only for the finished product but also at different stages of production, including the viral seed and vaccine concentrate. Going forward, the same quality control procedures will ensure that no RCA would be detected in future batches of Sputnik V vaccine.
- Appendix # 2 contains the batch protocols confirming that no RCA has been detected in Sputnik V vaccine. For avoidance of doubt, column «Number of replication-competent adenoviruses per dose», section 4 «Control testing results» of batch protocols refers to a theoretical limit, while the actual results of RCA testing are provided in column «Average number of plaques in two iterations».
- Science magazine (<https://www.sciencemag.org/news/2021/04/russias-covid-19-vaccine-safe-brazils-veto-sputnik-v-sparks-lawsuit-threat-and>) article sheds light on the source of ANVISA's misunderstanding:
  - The article quotes Jorge Kalil's correct understanding that strict double quality controls of both Gamaleya Institute and Roszdravnadzor confirmed

that no RCAs were detected. «Immunologist Jorge Kalil, a vaccine expert at the Federal University of São Paulo, São Paulo, and member of the Data and Safety Monitoring Board at the U.S. National Institutes of Health, disagrees with ANVISA's interpretation. He believes Russian quality-control documents are actually referring to the sensitivity of the testing». And this is correct and consistent with the letter dated March 26th to ANVISA that confirms no RCA detected. Quality controls in Russia that show «less than quality control threshold» means «no detection».

- In the same article, Gustavo Mendes shows his incorrect understanding of Gamaleya reports. «Mendes told Science this is not the case and that if it were, Gamaleya would have reported «no detection». This statement is incorrect and highly unprofessional as shows that Mendes did not even check with Gamaleya Institute the meaning of the reports prior to drawing his incorrect conclusions and taking them to the public eliciting significant damage based on wrong interpretation.
- The existing norms for determining amounts of RCA in the Sputnik V vaccine are in full compliance with the FDA recommendations. Under the existing FDA regulations, from 33 RCA can enter the human body (based on an intratumoral dose of  $10^{12}$  particles) to 1000 RCA (based on a maximum intravenous dose of  $3 \times 10^{13}$  particles).

2. «E1 is not deleted in Sputnik V vaccine».

**Gamaleya Center's Response**

- The production technology begins with cloning the target gene (in this case, the S gene) into a plasmid with a fragment of the Ad5 genome already without the E1 region. That is, the E1 region does not exist initially, and the target genes are cloned into the site of its deletion. The technology of E1 deleted vectors has been known for twenty years, its very basis does not allow «forgetting» the removal of

EI. It is impossible to forget to delete something that does not originally exist in the technology.

Documentation provided to ANVISA clearly states that EI has been deleted from Sputnik V. For instance, Pharmaceutical Development Document shows the following:

Table 2. Results of whole genome sequencing of 1-10 passages of rAd5-S-CoV2

Passage	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
EI region genes	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

We please ask ANVISA to confirm that it has in this letter, as well as in earlier correspondence (including the letter dated March 26 (Appendix # 1), the letter with Gamaleya Center's responses to ANVISA dated April 29), clearly received both Gamaleya Center's position and that of an independent Russian regulator Roszdravnadzor that through extensive quality control no RCA has been detected in Sputnik V vaccine. Please also acknowledge that ANVISA statements on this matter are based on incorrect assumptions as outlined in this letter and with supporting documents. We believe that such statements could have been avoided if ANVISA followed a standard procedure and verified its assumptions and conclusions with Gamaleya Center prior to making any public statements.

---

**Alexander Vasilievich Pronin**

Deputy Director of The Federal State  
Budgetary Institution N. F. Gamaleya  
National Research Center of  
Epidemiology and Microbiology of the  
Ministry of Health of the Russian  
Federation

**Appendix № 1**  
**Official letter from Gamaleya dated March 26,**  
**2021.**

MINISTRY OF HEALTH OF THE RUSSIAN FEDERATION



**Federal State Budgetary Institution**  
**N. F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology**  
**and Microbiology of the Ministry of Health of the Russian**  
**Federation**  
(FSBI N.F. Gamaleya NRCEM of the Ministry of Health of  
Russia)

123098, Moscow, Gamaleya str., 18

Tel.: 8 499-193-30-01

Fax: 8 499-193-61-83

26.03.2021 No.

<http://www.gamaleya.org>

On No. \_\_\_\_\_ of \_\_\_\_\_

E-mail: [info@gamaleya.org](mailto:info@gamaleya.org)

**TO WHOM IT MAY CONCERN**

The Federal State Budgetary Institution N. F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology of the Ministry of Health of the Russian Federation informs that the RCA (Replication-competent adenovirus) tolerance standard for the Gam-Covid-Vac vaccine is no more than 100 RCA per dose. At the same time, this value has been agreed by the Russian regulatory authorities and the safety of the vaccine preparation, with such a tolerance value according to RCA, is confirmed by conducted preclinical and clinical studies, and is also confirmed in the course of mass vaccination of the population. In addition, we would like to inform you that during the release of the vaccine product at the Center site and at the contract site of JSC Generium, not a single batch containing RCA was recorded.

  
Professor Alexander Leonidovich Gintsburg

Director of the National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation



## Appendix № 2

### Selected three batch protocols, which confirm absence of any RCAs in all batches.

Medgama Branch, FSBI N.F. Gamaleya NRCM of the Ministry of Health of Russia	SOP.15.650.01-F.01
Division: Biological and process control department	Page 1 of 11
Type of Document: Control Testing Sheet No. __1__	08.01 – 18.01.2021
<b>Gam-COVID-Vac. Control Testing Parameter Specific Safety COMPONENT II</b>	

1. Control testing date \_08\_ January \_\_2021

2. Information about Test Material

2.1. Background:

Item No.	Batch No.	Manufactured by	Intended use	Quantity to be tested
1	II-011220	CJSC LEKKO	Release control	3 samples
2	II -010121	CJSC LEKKO	Release control	3 samples
3	II -020120	CJSC LEKKO	Release control	3 samples
4	II -030121	CJSC LEKKO	Release control	3 samples
5	II -040120	CJSC LEKKO	Release control	3 samples
6	ZB00121	GENERIUM JSC	Release control	3 samples
7	ZB00221	GENERIUM JSC	Release control	3 samples
8	487031220	BIOCAD	Release control	3 samples
9				
10				

2.2. Storage conditions

According to regulatory documentation	Actual storage conditions	Compliance
Max -18 °C	-20°C	Yes / No
2 to 8 °C		Yes / No

3. Control testing protocol

3.1 Control testing equipment

Equipment	Serial No.	Equipment status Use is approved
CO <sub>2</sub> incubator	200260003	Yes/ No
Laminar box class II / type A2	221.120.00.3652	Yes/ No
Variable volume 20-200 mL dosimeter.	39282545	Yes/ No
Variable volume 100-1000 mL dosimeter.	39382220	Yes/ No

3.2 Reagents and auxiliary materials used in control testing

Reagent / Auxiliary material	Ref. no. / OL number/record No.	Batch number	Use before
Cultural dishes 60 mm with A549 cell monolayer (10 pcs)	*	Passage No. 15	*
Cultural medium DMEM 1x (serumless)	No. 128	-	14.01.21
Cover cultural medium DMEM 2x (OVER) (for A549)	No. 129	-	14.01.21
Cover 2% agar solution	No. 130	-	14.01.21
Neutral red dye 100x	No. 97	-	06.04.21
Positive control sample Ad5-RCA, titer $3.0 \cdot 10^9$ PFU/mL	-	040320	03.2021
serological pipettes, 5 mL, sterile, graduated, individually packaged	-	27520061	01.10.2023
serological pipettes, 10 mL, sterile, graduated, individually packaged	-	0329004	28.10.2023
Falcon tubes, 50 mL	-	J1922390	28.09.2025
Eppendorf tubes, 1.5 mL	-	J191482M	28.07.2028

Stamp here CAD

Medgamal Branch, FSBI N.F. Gamaleya NRCM of the Ministry of Health of Russia	SOP.15.650.01-F.01
Division: Biological and process control department	Page 2 of 11
Type of Document: Control Testing Sheet No. ___1___	08.01 – 18.01.2021
<b>Gam-COVID-Vac. Control Testing Parameter Specific Safety COMPONENT II</b>	

### 3.3 Preparation of the box for work

Box preparation control	Cleaning is completed	<input type="radio"/> Yes / <input type="radio"/> No
	UV treatment is completed	<input type="radio"/> Yes / <input type="radio"/> No

### 3.4 Reagents preparation

Item No.	SOP requirements	Requirement is met
1	Heat cultural medium DMEM 1x (serumless), cover medium DMEM 2x (OVER) to (37.0±1.0)°C	<input type="radio"/> Yes / <input type="radio"/> No
2	Melt the cover 2% agar solution	<input type="radio"/> Yes / <input type="radio"/> No
3	Prepare 1.5 mL tubes	<input type="radio"/> Yes / <input type="radio"/> No

### 3.5 Procedure

Item No.	SOP requirements	Requirement is met
1	Cell monolayer in the cultural dishes must be 70 to 90% (homogenous, without 'holes' and cell aggregates)	<input type="radio"/> Yes / <input type="radio"/> No
<b>3.5.1 Preparing a number of 10x dilutions of control samples</b>		
1	For each batch analyzed, allow vials with test material to stand at room temperature. Combine the contents.	<input type="radio"/> Yes / <input type="radio"/> No
2	Prepare eight 1.5 mL tubes for each test sample, label each two tubes as follows: (10 <sup>-1</sup> ) dilution; (10 <sup>-2</sup> ) dilution; (10 <sup>-3</sup> ) dilution; (10 <sup>-4</sup> ) dilution	<input type="radio"/> Yes / <input type="radio"/> No
3	Prepare four 10x dilutions of each test sample in two iterations from 10 <sup>-1</sup> to 10 <sup>-4</sup> dilution (150 µl of sample + 1350 µl of serumless medium)	<input type="radio"/> Yes / <input type="radio"/> No
<b>3.5.2 Preparing a positive control sample</b>		
1	Prepare as many 1.5 mL tubes as correspond to the PCS titer order. Label accordingly.	<input type="radio"/> Yes / <input type="radio"/> No
2	Prepare 10x dilutions of PCS from 10 <sup>-1</sup> to 10 <sup>-9</sup> (first dilution: 20 µl of PCS + 180 µl of serumless medium; then - 150 µl of sample + 1350 µl of serumless medium)	<input type="radio"/> Yes / <input type="radio"/> No
<b>3.5.3 Transferring dilutions (of PCS and test samples) to cultural dishes</b>		
1	Label cultural dishes with a cell monolayer as follows: C - monolayer control PCS - 10 <sup>-7</sup> PCS - 10 <sup>-8</sup> PCS - 10 <sup>-9</sup> For each test sample: Experiment 10 <sup>-2</sup> (two dishes) Experiment 10 <sup>-3</sup> (two dishes) Experiment 10 <sup>-4</sup> (two dishes)	<input type="radio"/> Yes / <input type="radio"/> No
2	Add 1 ml of serumless growth medium to monolayer control dish (negative control)	<input type="radio"/> Yes / <input type="radio"/> No
3	Add test sample starting from the largest dilution. Stir the contents of the (dilution 10 <sup>-4</sup> ) tube from first iteration, add 1 mL to cultural dish. Similarly, add second iteration dilution.	<input type="radio"/> Yes / <input type="radio"/> No
4	Similarly, add dilutions 10 <sup>-3</sup> and 10 <sup>-2</sup> .	<input type="radio"/> Yes / <input type="radio"/> No
5	Similarly, add each test sample as per items 3-4	<input type="radio"/> Yes / <input type="radio"/> No
6	Stir the contents of the (dilution 10 <sup>-9</sup> ) tube, add 1 mL to cultural dish. Similarly, add dilutions 10 <sup>-8</sup> and 10 <sup>-7</sup> .	<input type="radio"/> Yes / <input type="radio"/> No

Stamp here CAD

Medgamal Branch, FSBI N.F. Gamaleya NRCM of the Ministry of Health of Russia	SOP.15.650.01-F.01
Division: Biological and process control department	Page 3 of 11
Type of Document: Control Testing Sheet No. <u>1</u>	<u>08.01 – 18.01.2021</u>
<b>Gam-COVID-Vac. Control Testing Parameter Specific Safety COMPONENT II</b>	

Item No.	SOP requirements	Requirement is met
7	Incubate the dishes in a CO <sub>2</sub> incubator at (37±1) °C in an atmosphere with (5.0±0.5)% CO <sub>2</sub> for 4–6 hours. Begins <u>J2<sup>10</sup></u> ; Ends <u>J7<sup>20</sup></u>	<input checked="" type="radio"/> Yes / No
8	Prepare a cover medium. For 10 dishes: add 25 mL of cover cultural medium DMEM 2x (OVER) and 25 mL of 2 % agar solution to a sterile 50 mL tube. Carefully mix the contents with a pipette avoiding to create bubbles.	<input checked="" type="radio"/> Yes / No
9	Remove the dilution medium from the dishes. Transfer the cover medium to the dishes as follows: dishes with negative control → dishes with dilutions of test samples, beginning with the lowest dilution → dishes with positive control. Pour slowly, along the wall, 5 mL of cover medium into each dish.	<input checked="" type="radio"/> Yes / No
10	Incubate the dishes in a CO <sub>2</sub> incubator at (37.0±1.0) °C with (5.0±0.5) % CO <sub>2</sub> for 3 days.	<input checked="" type="radio"/> Yes / No
Executive		[signature]   <i>Goldovskaya P.P.</i>
Date: <u>08.01.2021</u>		
11	Add 5 mL of medium each to the dishes according to items 7-8. Incubate the dishes in a CO <sub>2</sub> incubator at (37.0±1.0) °C with (5.0±0.5) % CO <sub>2</sub> for 3 days.	<input checked="" type="radio"/> Yes / No
Executive		[signature]   <i>Goldovskaya P.P.</i>
Date: <u>11.01.2021</u>		
12	Add 5 mL of medium each to the dishes according to items 7-8. Incubate the dishes in a CO <sub>2</sub> incubator at (37.0±1.0) °C with (5.0±0.5) % CO <sub>2</sub> for 2-3 days.	<input checked="" type="radio"/> Yes / No
Executive		[signature]   <i>Goldovskaya P.P.</i>
Date: <u>14.01.2021</u>		
<b>3.5.4 Staining cell monolayer with neutral red dye</b>		
1	Prepare dyed cover nutritional medium. Mix in a 50 mL tube 15 ml of cover medium DMEM 2x, 13.2 mL of 2 % agar solution, and 1.8 mL of neutral red dye solution.	<input checked="" type="radio"/> Yes / No
2	Add 3 mL of dyed cover medium to each dish	<input checked="" type="radio"/> Yes / No
3	Incubate the dishes in a CO <sub>2</sub> incubator at (37±1) °C with (5.0±0.5)% CO <sub>2</sub> for 24 hours. Results are to be registered on days 9-10.	<input checked="" type="radio"/> Yes / No
Executive		[signature]   <i>Goldovskaya P.P.</i>
Date: <u>17.01.2021</u>		

Medgamal Branch, FSBI N.F. Gamaleya NRCM of the Ministry of Health of Russia	SOP.15.650.01-F.01
Division: Biological and process control department	Page 4 of 11
Type of Document: Control Testing Sheet No. __1__	<u>08.01 – 18.01.2021</u>
<b>Gam-COVID-Vac. Control Testing Parameter Specific Safety COMPONENT II</b>	

Item No.	SOP requirements	Requirement is met
<b>3.5.5</b>	<b>Recording the results</b>	
1	The control results are to be recorded, provided there is no degeneration of the cell monolayer in the Petri dish with negative control.	
2	When staining with neutral red the live cell monolayer turns reddish, while plaques appear as unstained round spots. Plaques are to be counted visually in those dilutions of the samples where they do not merge with one another. Enter the results in Table 1.1.	
3	Control testing results are to be recorded if only individual plaques are observable in PCS dishes with $10^{-9}$ dilution, with their number increasing pro rata in subsequent dilutions ( $10^{-8}$ and $10^{-7}$ ).	
<b>3.5.6</b>	<b>Calculation procedure</b> (Excel may be used for calculations)	
1	Determine the average number of plaques (in 2 dishes) for each dilution.	$n_{av} = n_{i1} + n_{i2}$
2	Determine the number of recombinant adenoviral particles (RCA) for each dilution in which plaques were detected	where $N_i = [(n_{iav} \times 10^9)/V] \times 0.5$ , where $n_{iav}$ – the average number of plaque areas in 2 dishes; $a$ – drug dilution, mL; $V$ - volume of solution added per dish, mL; $0.5$ - volume of a vaccine dose, mL.
3	Calculate the arithmetic average of the results for each dilution	$N_{av} = (N_i + N_{i+1}) / 2$ , where $N_i; N_{i+1}$ - number of RCA for each dilution $2$ - number of iterations



Medgamal Branch, FSBI N.F. Gamaleya NRCM of the Ministry of Health of Russia	SOP.15.650.01-F.01
Division: Biological and process control department	Page 5 of 11
Type of Document: Control Testing Sheet No. <u>1</u>	08.01 – 18.01.2021
<b>Gam-COVID-Vac. Control Testing Parameter Specific Safety COMPONENT II</b>	

#### 4. Results of control testing

Results recording date: 18.01.2021

Table I.1 Results recording.

Preparing the test sample	Number of plaques		Average number of plaques in two iterations	Number of replication-competent adenoviruses per dose
	1st cultural dish	2nd cultural dish		
Negative control		-	-	-
<b>Positive control sample</b>				
Dilution 10 <sup>-7</sup>	>200	-		
Dilution 10 <sup>-8</sup>	16	-		
Dilution 10 <sup>-9</sup>	2	-		
<b>1. Batch II-011220 CJSC LEKKO</b>				
Dilution 10 <sup>-2</sup>	0	0	0	<i>Less than 50 / dose</i>
Dilution 10 <sup>-3</sup>	0	0		
Dilution 10 <sup>-4</sup>	0	0		
<b>2. Batch II-010120 CJSC LEKKO</b>				
Dilution 10 <sup>-2</sup>	0	0	0	<i>Less than 50 / dose</i>
Dilution 10 <sup>-3</sup>	0	0		
Dilution 10 <sup>-4</sup>	0	0		
<b>3. Batch II-020120 CJSC LEKKO</b>				
Dilution 10 <sup>-2</sup>	0	0	0	<i>Less than 50 / dose</i>
Dilution 10 <sup>-3</sup>	0	0		
Dilution 10 <sup>-4</sup>	0	0		
<b>4. Batch II-030120 CJSC LEKKO</b>				
Dilution 10 <sup>-2</sup>	0	0	0	<i>Less than 50 / dose</i>
Dilution 10 <sup>-3</sup>	0	0		
Dilution 10 <sup>-4</sup>	0	0		
<b>5. Batch II-040120 CJSC LEKKO</b>				
Dilution 10 <sup>-2</sup>	0	0	0	<i>Less than 50 / dose</i>
Dilution 10 <sup>-3</sup>	0	0		
Dilution 10 <sup>-4</sup>	0	0		
<b>6. Batch ZB00121 JSC GENERIUM</b>				
Dilution 10 <sup>-2</sup>	0	0	0	<i>Less than 50 / dose</i>
Dilution 10 <sup>-3</sup>	0	0		
Dilution 10 <sup>-4</sup>	0	0		
<b>7. Batch ZB00221 JSC GENERIUM</b>				
Dilution 10 <sup>-2</sup>	0	0	0	<i>Less than 50 / dose</i>
Dilution 10 <sup>-3</sup>	0	0		
Dilution 10 <sup>-4</sup>	0	0		
<b>8. Batch 487031220 BIOCAD</b>				
Dilution 10 <sup>-2</sup>	0	0	0	<i>Less than 50 / dose</i>
Dilution 10 <sup>-3</sup>	0	0		
Dilution 10 <sup>-4</sup>	0	0		

Estimate

Stamp here CAD

Medgamal Branch, FSBI N.F. Gamaleya NRCEM of the Ministry of Health of Russia	SOP.15.650.01-F.01
Division: Biological and process control department	Page 1 of 12
Type of Document: Control Testing Sheet No. <u>2</u>	<u>11.01-21.01.2021</u>
<b>Gam-COVID-Vac. Control Testing Parameter Specific Safety Component II.</b>	

1. Control testing date 11 January 2021

2. Information about Test Material

2.1. Background:

Item No.	Batch No.	Manufactured by	Intended use	Quantity to be tested
1	II- 10121	BINNOPHARM	Release control	3 samples
2	II- 20121	BINNOPHARM	Release control	3 samples
3	II-010121	Pharmstandard-UfaVITA OJSC	Release control	3 samples
4	II-020121	Pharmstandard-UfaVITA OJSC	Release control	3 samples
5	II-030121	Pharmstandard-UfaVITA OJSC	Release control	3 samples
6	II-040121	Pharmstandard-UfaVITA OJSC	Release control	3 samples
7	ZB00321	GENERIUM JSC	Release control	3 samples
8	ZB00421	GENERIUM JSC	Release control	3 samples
9	II-050120	CJSC LEKKO	Release control	3 samples
10	II-060121	CJSC LEKKO	Release control	3 samples

2.2. Storage conditions

According to regulatory documentation	Actual storage conditions	Compliance
Max -18 °C	- 20°C	Yes/ No
2 to 8 °C	-	Yes/ No

3. Control testing protocol

3.1 Control testing equipment

Equipment	Serial No.	Equipment status Use is approved
CO <sub>2</sub> incubator	200260003	Yes/ No
Laminar flow unit class II / type A2	221.120.00.3652	Yes/ No
Variable volume 20-200 mL dosimeter.	39282545	Yes/ No
Variable volume 100-1000 mL dosimeter.	39382220	Yes/ No

3.2 Reagents and auxiliary materials used in control testing

Reagent/ auxiliary material	Ref. no. / OL number/record No.	Batch number	Shelf life
Cultural dishes 60 mm with A549 cell monolayer (10 pcs)	*	Passage No. 16	*
Cultural medium DMEM 1x (serumless)	N 128	-	14.01.21
Cover cultural medium DMEM 2x (OVER) (for A549)	N 129	-	14.01.21
Cover 2% agar solution	N 130	-	14.01.21
Neutral red dye 100x	N 97	-	08.04.21
Positive control sample Ad5-RCA, titer 3.0 10 <sup>6</sup> PFU/mL	-	040320	01.10.2021
serological pipettes, 5 mL, sterile, graduated, individually packaged	-	27520061	08.10.2021
serological pipettes, 10 mL, sterile, graduated, individually packaged	-	0032004	14.01.21

Medgamal Branch, FSBI N.F. Gamaleya NRCEM of the Ministry of Health of Russia	SOP.15.650.01-F.01
Division: Biological and process control department	Page 2 of 12
Type of Document: Control Testing Sheet No. <u>2</u>	11.01-21.01.2021
<b>Gam-COVID-Vac. Control Testing Parameter Specific Safety Component II.</b>	

Falcon tubes, 50 mL	-	J1922390	28.09.25
Eppendorf tubes, 1.5 mL	-	J191482M	28.07.28

### 3.3 Preparation of the box for work

Box preparation control	Cleaning is completed	<input checked="" type="radio"/> Yes/ No
	UV treatment is completed	Yes/ No

### 3.4 Reagents preparation

Item No.	SOP requirements	The requirement is met
1	Heat cultural medium DMEM 1x (serumless), cover medium DMEM 2x (OVER) to (37.0±1.0)°C	<input checked="" type="radio"/> Yes/ No
2	Melt the cover 2% agar solution	<input checked="" type="radio"/> Yes/ No
3	Prepare 1.5 mL tubes	<input checked="" type="radio"/> Yes/ No

### 3.5 Procedure

Item No.	SOP requirements	The requirement is met
1	Cell monolayer in the cultural dishes must be 70 to 90% (homogenous, without 'holes' and cell aggregates)	<input checked="" type="radio"/> Yes/ No

#### 3.5.1 Preparing a number of 10x dilutions of control samples

1	For each batch analyzed, allow vials with test material to stand at room temperature. Combine the contents.	<input checked="" type="radio"/> Yes/ No
2	Prepare eight 1.5 mL tubes for each test sample, label each two tubes as follows: (10 <sup>-1</sup> ) dilution; (10 <sup>-2</sup> ) dilution; (10 <sup>-3</sup> ) dilution; (10 <sup>-4</sup> ) dilution	<input checked="" type="radio"/> Yes/ No
3	Prepare four 10x dilutions of each test sample in two iterations from 10 <sup>-1</sup> to 10 <sup>-4</sup> dilution (150 µl of sample + 1350 µl of serumless medium)	<input checked="" type="radio"/> Yes/ No

#### 3.5.2 Preparing a positive control sample

1	Prepare as many 1.5 mL tubes as correspond to the PCS titer order. Label accordingly.	<input checked="" type="radio"/> Yes/ No
2	Prepare 10x dilutions of PCS from 10 <sup>-1</sup> to 10 <sup>-9</sup> (first dilution: 20 µl of PCS + 180 µl of serumless medium; then - 150 µl of sample + 1350 µl of serumless medium)	<input checked="" type="radio"/> Yes/ No

#### 3.5.3 Transferring dilutions (of PCS and test samples) to cultural dishes

1	Label cultural dishes with a cell monolayer as follows: C- monolayer control PCS - 10 <sup>-7</sup> PCS - 10 <sup>-8</sup> PCS - 10 <sup>-9</sup> For each test sample: Experiment 10 <sup>-2</sup> (two dishes) Experiment 10 <sup>-3</sup> (two dishes) Experiment 10 <sup>-4</sup> (two dishes)	<input checked="" type="radio"/> Yes/ No
2	Add 1 ml of serumless growth medium to monolayer control dish (negative control)	<input checked="" type="radio"/> Yes/ No

Stamp here CAD

Medgamal Branch, FSBI N.F. Gamalcyu NRCM of the Ministry of Health of Russia	SOP.15.650.01-F.01
Division: Biological and process control department	Page 3 of 12
Type of Document: Control Testing Sheet No. <u>2</u>	11.01-21.01.2021
<b>Gam-COVID-Vac. Control Testing Parameter Specific Safety Component II.</b>	

Item No.	SOP requirements	The requirement is met
3	Add test sample starting from the largest dilution. Stir the contents of the (dilution $10^{-7}$ ) tube from first iteration, add 1 mL to cultural dish. Similarly, add second iteration dilution.	<input checked="" type="radio"/> Yes/ No
4	Similarly, add dilutions $10^{-3}$ and $10^{-2}$ .	<input checked="" type="radio"/> Yes/ No
5	Similarly, add each test sample as per items 3-4	<input checked="" type="radio"/> Yes/ No
6	Stir the contents of the (dilution $10^{-6}$ ) tube, add 1 mL to cultural dish. Similarly, add dilutions $10^{-8}$ and $10^{-7}$ .	<input checked="" type="radio"/> Yes/ No
7	Incubate the dishes in a CO <sub>2</sub> incubator at $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ with $(5.0 \pm 0.5)\%$ CO <sub>2</sub> for 4-6 hours. Begins <u>1135</u> ; Ends <u>16<sup>15</sup></u>	<input checked="" type="radio"/> Yes/ No
8	Prepare a cover medium. For 10 dishes: add 25 mL of cover cultural medium DMEM 2x (OVER) and 25 mL of 2 % agar solution to a sterile 50 mL tube. Carefully mix the contents with a pipette avoiding to create bubbles.	<input checked="" type="radio"/> Yes/ No
9	Remove the dilution medium from the dishes. Transfer the cover medium to the dishes as follows: dishes with negative control → dishes with dilutions of test samples, beginning with the lowest dilution → dishes with positive control. Pour slowly, along the wall, 5 mL of cover medium into each dish.	<input checked="" type="radio"/> Yes/ No
10	Incubate the dishes in a CO <sub>2</sub> incubator at $(37.0 \pm 1.0)^\circ\text{C}$ with $(5.0 \pm 0.5) \%$ CO <sub>2</sub> for 3 days.	<input checked="" type="radio"/> Yes/ No
Executive [signature]		Goldovskaya P.P.
Date <u>11.01.2021</u>		
11	Add 5 mL of medium each to the dishes according to items 7-8. Incubate the dishes in a CO <sub>2</sub> incubator at $(37.0 \pm 1.0)^\circ\text{C}$ with $(5.0 \pm 0.5) \%$ CO <sub>2</sub> for 3 days.	<input checked="" type="radio"/> Yes/ No
Executive [signature]		Goldovskaya P.P.
Date <u>14.01.2021</u>		
12	Add 5 mL of medium each to the dishes according to items 7-8. Incubate the dishes in a CO <sub>2</sub> incubator at $(37.0 \pm 1.0)^\circ\text{C}$ with $(5.0 \pm 0.5) \%$ CO <sub>2</sub> for 2-3 days.	<input checked="" type="radio"/> Yes/ No
Executive [signature]		Goldovskaya P.P.
Date <u>17.01.2021</u>		
<b>3.5.4 Staining monolayer of cells with neutral red dye</b>		
1	Prepare dyed cover nutritional medium. Mix in a 50 mL tube 15 mL of cover medium DMEM 2x, 13.2 mL of 2 % agar solution, and 1.8 mL of neutral red dye solution.	<input checked="" type="radio"/> Yes/ No
2	Add 3 mL of dyed cover medium to each dish	<input checked="" type="radio"/> Yes/ No
3	Incubate the dishes in a CO <sub>2</sub> incubator at $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ with $(5.0 \pm 0.5)\%$ of CO <sub>2</sub> for 24 hours. Results are to be registered on days 9-10.	<input checked="" type="radio"/> Yes/ No
Executive [signature]		Goldovskaya P.P.

Stamp here CAD



Medgamal Branch, FSBI N.F. Gamaleya NRCM of the Ministry of Health of Russia	SOP.15.650.01-F.01
Division: Biological and process control department	Page 4 of 12
Type of Document: Control Testing Sheet No. <u>2</u>	11.01-21.01.2021
<b>Gam-COVID-Vac. Control Testing Parameter Specific Safety Component II.</b>	

Item No.	SOP requirements	The requirement is met
Date: <u>20.01.2021</u>		
<b>3.5.5 Recording the results</b>		
1	The control results are to be recorded, provided there is no degeneration of the cell monolayer in the Petri dish with negative control.	
2	When staining with neutral red the live cell monolayer turns reddish, while plaques appear as unstained round spots. Plaques are to be counted visually in those dilutions of the samples where they do not merge with one another. Enter the results in Table 1.1.	
3	Control testing results are to be recorded if only individual plaques are observable in PCS dishes with $10^9$ dilution, with their number increasing pro rata in subsequent dilutions ( $10^8$ and $10^7$ ).	
<b>3.5.6 Calculation procedure</b> (Excel may be used for calculations)		
1	Determine the average number of plaques (in 2 dishes) for each dilution.	$n_{av} = n_{11} + n_{12}$
2	Determine the number of recombinant adenoviral particles (RCA) for each dilution in which plaques were detected	where $N_i = [(n_{av} \times 10^9)/V] \times 0.5$ , where $n_{av}$ - average number in 2 dishes; a - drug dilution, mL; V - volume of solution added per dish, mL; 0.5 - volume of a vaccine dose, mL.
3	Calculate the arithmetic average of the results for each dilution	$N_{av} = (N_i + N_{i+1}) / 2$ , where $N_i; N_{i+1}$ - number of RCA for each dilution 2 - Number of iterations

Medgamal Branch, FSBI N.F. Gamaleya NRCM of the Ministry of Health of Russia	SOP.15.650.01-F.01
Division: Biological and process control department	Page 5 of 12
Type of Document: Control Testing Sheet No. 2	11.01-21.01.2021
<b>Gam-COVID-Vac. Control Testing Parameter Specific Safety Component II.</b>	

#### 4. Control testing results

Results recording date 21.01.2021

Table 1.1 Results recording

Preparing the test sample	Number of plaques		Average number of plaques in two iterations	Number of replication-competent adenoviruses per dose
	1st cultural dish	2nd cultural dish		
Negative control		-	-	-
<b>Positive control sample</b>				
Dilution 10 <sup>-1</sup>	>200	-	-	-
Dilution 10 <sup>-2</sup>	12	-	-	-
Dilution 10 <sup>-3</sup>	1	-	-	-
<b>1. Batch: II-10121 BINNOPHARM</b>				
Dilution 10 <sup>-2</sup>	0	0	0	Less than 50 / dose
Dilution 10 <sup>-3</sup>	0	0	0	
Dilution 10 <sup>-4</sup>	0	0	0	
<b>2. Batch: II-20121 BINNOPHARM</b>				
Dilution 10 <sup>-2</sup>	0	0	0	Less than 50 / dose
Dilution 10 <sup>-3</sup>	0	0	0	
Dilution 10 <sup>-4</sup>	0	0	0	
<b>3. Batch II-010120 Pharmstandard-UfaVITA OJSC</b>				
Dilution 10 <sup>-2</sup>	0	0	0	Less than 50 / dose
Dilution 10 <sup>-3</sup>	0	0	0	
Dilution 10 <sup>-4</sup>	0	0	0	
<b>4. Batch II-020120 Pharmstandard-UfaVITA OJSC</b>				
Dilution 10 <sup>-2</sup>	0	0	0	Less than 50 / dose
Dilution 10 <sup>-3</sup>	0	0	0	
Dilution 10 <sup>-4</sup>	0	0	0	
<b>5. Batch II-030120 Pharmstandard-UfaVITA OJSC</b>				
Dilution 10 <sup>-2</sup>	0	0	0	Less than 50 / dose
Dilution 10 <sup>-3</sup>	0	0	0	
Dilution 10 <sup>-4</sup>	0	0	0	
<b>6. Batch II-040120 Pharmstandard-UfaVITA OJSC</b>				
Dilution 10 <sup>-2</sup>	0	0	0	Less than 50 / dose
Dilution 10 <sup>-3</sup>	0	0	0	
Dilution 10 <sup>-4</sup>	0	0	0	
<b>7. Batch ZB00321 GENERIUM JSC</b>				
Dilution 10 <sup>-2</sup>	0	0	0	Less than 50 / dose
Dilution 10 <sup>-3</sup>	0	0	0	
Dilution 10 <sup>-4</sup>	0	0	0	
<b>8. Batch ZB00421 GENERIUM JSC</b>				
Dilution 10 <sup>-2</sup>	0	0	0	Less than 50 / dose
Dilution 10 <sup>-3</sup>	0	0	0	
Dilution 10 <sup>-4</sup>	0	0	0	
<b>9. Batch II-050121 CJSC LEKKO</b>				
Dilution 10 <sup>-2</sup>	0	0	0	Less than 50 / dose
Dilution 10 <sup>-3</sup>	0	0	0	
Dilution 10 <sup>-4</sup>	0	0	0	
<b>10. Batch II-060121 CJSC LEKKO</b>				

Stamp here CAD

Medgamal Branch, FSBI N.F. Gamaleya NRCM of the Ministry of Health of Russia	SOP.15.650.01-F.01
Division: Biological and process control department	Page 6 of 12
Type of Document: Control Testing Sheet No. 2	11.01-21.01.2021
<b>Gam-COVID-Vac. Control Testing Parameter Specific Safety Component II.</b>	

Dilution 10 <sup>-2</sup>	0	0	0	Less than 50 / dose
Dilution 10 <sup>-3</sup>	0	0		
Dilution 10 <sup>-4</sup>	0	0		

Estimate

Medgama Branch, FSBI N.F. Gamaleva NRCM of the Ministry of Health of Russia	SOP.15.650.01-F.01
Division: Biological and process control department	Page 1 of 9
Type of Document: Control Testing Sheet No. 3	18.01 – 28.01.2021
<b>Gam-COVID-Vac. Control Testing Parameter Specific Safety Component II</b>	

1. Control testing date \_18\_ January \_\_ 2021

2. Information about Test Material

2.1. Background:

Item No.	Batch No.	Manufactured by	Intended use	Quantity to be tested
1	II-050121	Pharmstandard-UfaVITA OJSC	Release control	3 samples
2	II-060121	Pharmstandard-UfaVITA OJSC	Release control	3 samples
3	II-070121	Pharmstandard-UfaVITA OJSC	Release control	3 samples
4	II- 30121	BINNOPHARM	Release control	3 samples
5	ZB00521	GENERIUM JSC	Release control	3 samples
6	II-070121	CJSC LEKKO	Release control	3 samples
7				
8				
9				
10				

2.2. Storage conditions

According to regulatory documentation	Actual storage conditions	Compliance
Max -18 °C	-20°C	Yes / No
2 to 8 °C	-	Yes / No

3. Control testing protocol

3.1 Control testing equipment

Equipment	Serial No.	Equipment status Use is approved
CO <sub>2</sub> incubator	200260003	Yes / No
Laminar box class II / type A2	221.120.00.3652	Yes / No
Variable volume 20-200 mL dosimeter.	39282545	Yes / No
Variable volume 100-1000 mL dosimeter.	39382220	Yes / No

3.2 Reagents and auxiliary materials used in control testing

Reagent / Auxiliary material	Ref. no. / OL number/record No.	Batch number	Shelf life
Cultural dishes 60 mm with A549 cell monolayer (10 pcs)	*	Passage No. 18	*
Cultural medium DMEM 1x (serumless)	N°2	-	11.02.21
Cover cultural medium DMEM 2x (OVER) (for A549)	N°4	-	11.02.21
Cover 2% agar solution	N°5	-	11.02.21
Neutral red dye 100x	N°97	-	06.04.21
Positive control sample Ad5-RCA, titer $3.0 \cdot 10^9$ PFU/mL	-	040320	03.2021
serological pipettes, 5 mL, sterile, graduated, individually packaged	-	27520061	01.10.23
serological pipettes, 10 mL, sterile, graduated, individually packaged	-	0329004	28.10.23
Falcon tubes, 50 mL	-	J1922390	28.09.25
Eppendorf tubes, 1.5 mL	-	J191482M	28.07.28

Stamp here CAD

Medgama Branch, FSBI N.F. Gamaleya NRCM of the Ministry of Health of Russia	SOP.15.650.01-F.01
Division: Biological and process control department	Page 2 of 9
Type of Document: Control Testing Sheet No. 3	18.01 – 28.01.2021
<b>Gam-COVID-Vac. Control Testing Parameter Specific Safety Component II</b>	

### 3.3 Preparation of the box for work

Box preparation control	Cleaning is completed	<input checked="" type="radio"/> Yes / <input type="radio"/> No
	UV treatment is completed	<input checked="" type="radio"/> Yes / <input type="radio"/> No

### 3.4 Reagents preparation

Item No.	SOP requirements	The requirement is met
1	Heat cultural medium DMEM 1x (serumless), cover medium DMEM 2x (OVER) to (37.0±1.0)°C	<input checked="" type="radio"/> Yes / <input type="radio"/> No
2	Melt the cover 2% agar solution	<input checked="" type="radio"/> Yes / <input type="radio"/> No
3	Prepare 1.5 mL tubes	<input checked="" type="radio"/> Yes / <input type="radio"/> No

### 3.5 Procedure

Item No.	SOP requirements	The requirement is met
1	Cell monolayer in the cultural dishes must be 70 to 90% (homogenous, without 'holes' and cell aggregates)	<input checked="" type="radio"/> Yes / <input type="radio"/> No
<b>3.5.1 Preparing a number of 10x dilutions of control samples</b>		
1	For each batch analyzed, allow vials with test material to stand at room temperature. Combine the contents.	<input checked="" type="radio"/> Yes / <input type="radio"/> No
2	Prepare eight 1.5 mL tubes for each test sample, label each two tubes as follows: (10 <sup>-1</sup> ) dilution; (10 <sup>-2</sup> ) dilution; (10 <sup>-3</sup> ) dilution; (10 <sup>-4</sup> ) dilution	<input checked="" type="radio"/> Yes / <input type="radio"/> No
3	Prepare four 10x dilutions of each test sample in two iterations from 10 <sup>-1</sup> to 10 <sup>-4</sup> dilution (150 µl of sample + 1350 µl of serumless medium)	<input checked="" type="radio"/> Yes / <input type="radio"/> No
<b>3.5.2 Preparing a positive control sample</b>		
1	Prepare as many 1.5 mL tubes as correspond to the PCS titer order. Label accordingly.	<input checked="" type="radio"/> Yes / <input type="radio"/> No
2	Prepare 10x dilutions of PCS from 10 <sup>-1</sup> to 10 <sup>-9</sup> (first dilution: 20 µl of PCS + 180 µl of serumless medium; then - 150 µl of sample + 1350 µl of serumless medium)	<input checked="" type="radio"/> Yes / <input type="radio"/> No
<b>3.5.3 Transferring dilutions (of PCS and test samples) to cultural dishes</b>		
1	Label cultural dishes with a cell monolayer as follows: C - monolayer control PCS - 10 <sup>-7</sup> PCS - 10 <sup>-8</sup> PCS - 10 <sup>-9</sup> For each test sample: Experiment 10 <sup>-2</sup> (two dishes) Experiment 10 <sup>-3</sup> (two dishes) Experiment 10 <sup>-4</sup> (two dishes)	<input checked="" type="radio"/> Yes / <input type="radio"/> No
2	Add 1 ml of serumless growth medium to monolayer control dish (negative control)	<input checked="" type="radio"/> Yes / <input type="radio"/> No
3	Add test sample starting from the largest dilution. Stir the contents of the (dilution 10 <sup>-4</sup> ) tube from first iteration, add 1 mL to cultural dish. Similarly, add second iteration dilution.	<input checked="" type="radio"/> Yes / <input type="radio"/> No
4	Similarly, add dilutions 10 <sup>-3</sup> and 10 <sup>-2</sup> .	<input checked="" type="radio"/> Yes / <input type="radio"/> No
5	Similarly, add each test sample as per items 3-4	<input checked="" type="radio"/> Yes / <input type="radio"/> No
6	Stir the contents of the (dilution 10 <sup>-9</sup> ) tube, add 1 mL to cultural dish. Similarly, add dilutions 10 <sup>-8</sup> and 10 <sup>-7</sup> .	<input checked="" type="radio"/> Yes / <input type="radio"/> No

Stamp here CAD



Medgamal Branch, FSBI N.F. Gamaleya NRCM of the Ministry of Health of Russia		SOP.15.650.01-F.01
Division: Biological and process control department		Page 3 of 9
Type of Document: Control Testing Sheet No. <u>3</u>		<u>18.01 – 28.01.2021</u>
<b>Gam-COVID-Vac. Control Testing Parameter Specific Safety Component II</b>		
Item No.	SOP requirements	The requirement is met
7	Incubate the dishes in a CO <sub>2</sub> incubator at (37±1) °C in an atmosphere with (5.0±0.5)% CO <sub>2</sub> for 4–6 hours. Begins <u>12<sup>00</sup></u> ; Ends <u>17<sup>00</sup></u>	<input checked="" type="radio"/> Yes / No
8	Prepare a cover medium. For 10 dishes: add 25 mL of cover cultural medium DMEM 2x (OVER) and 25 mL of 2 % agar solution to a sterile 50 mL tube. Carefully mix the contents with a pipette avoiding to create bubbles.	<input checked="" type="radio"/> Yes / No
9	Remove the dilution medium from the dishes. Transfer the cover medium to the dishes as follows: dishes with negative control → dishes with dilutions of test samples, beginning with the lowest dilution → dishes with positive control. Pour slowly, along the wall, 5 mL of cover medium into each dish.	<input checked="" type="radio"/> Yes / No
10	Incubate the dishes in a CO <sub>2</sub> incubator at (37.0±1.0) °C with (5.0±0.5) % CO <sub>2</sub> for 3 days.	<input checked="" type="radio"/> Yes / No
Executive		[signature]   Goldovskaya P.P.
Date <u>18.01.2021</u>		
11	Add 5 mL of medium each to the dishes according to items 7-8. Incubate the dishes in a CO <sub>2</sub> incubator at (37.0±1.0) °C with (5.0±0.5)% of CO <sub>2</sub> for 3 days.	<input checked="" type="radio"/> Yes / No
Executive		[signature]   Goldovskaya P.P.
Date <u>21.01.2021</u>		
12	Add 5 mL of medium each to the dishes according to items 7-8. Incubate the dishes in a CO <sub>2</sub> incubator at (37.0±1.0) °C with (5.0±0.5)% of CO <sub>2</sub> for 2-3 days.	<input checked="" type="radio"/> Yes / No
Executive		[signature]   Goldovskaya P.P.
Date <u>24.01.2021</u>		
<b>3.5.4 Staining monolayer of cells with neutral red dye</b>		
1	Prepare dyed cover nutritional medium. Mix in a 50 mL tube 15 ml of cover medium DMEM 2x, 13.2 mL of 2 % agar solution, and 1.8 mL of neutral red dye solution.	<input checked="" type="radio"/> Yes / No
2	Add 3 mL of dyed cover medium to each dish	<input checked="" type="radio"/> Yes / No
3	Incubate the dishes in a CO <sub>2</sub> incubator at (37±1) °C with (5.0±0.5)% CO <sub>2</sub> for 24 hours. Results are to be registered on days 9-10.	<input checked="" type="radio"/> Yes / No
Executive		[signature]   Goldovskaya P.P.
Date <u>27.01.2021</u>		

Stamp here CAD

Medgamal Branch, FSBI N.F. Gamaleya NRCM of the Ministry of Health of Russia	SOP.15.650.01-F.01
Division: Biological and process control department	Page 4 of 9
Type of Document: Control Testing Sheet No. 3	18.01 – 28.01.2021
<b>Gam-COVID-Vac. Control Testing Parameter Specific Safety Component II</b>	

Item No.	SOP requirements	The requirement is met
<b>3.5.5 Recording the results</b>		
1	The control results are to be recorded, provided there is no degeneration of the cell monolayer in the Petri dish with negative control.	
2	When staining with neutral red the live cell monolayer turns reddish, while plaques appear as unstained round spots. Plaques are to be counted visually in those dilutions of the samples where they do not merge with one another. Enter the results in Table I.1.	
3	Control testing results are to be recorded if only individual plaques are observable in PCS dishes with $10^9$ dilution, with their number increasing pro rata in subsequent dilutions ( $10^8$ and $10^7$ ).	
<b>3.5.6 Calculation procedure</b> (Excel may be used for calculations)		
1	Determine the average number of plaques (in 2 dishes) for each dilution.	$n_{av} = n_{11} + n_{12}$
2	Determine the number of recombinant adenoviral particles (RCA) for each dilution in which plaques were detected	where $N_i = [(n_{av} \times 10^9)/V] \times 0.5$ , where $n_{av}$ – the average number of plaque areas in 2 dishes; $a$ – drug dilution, mL; $V$ - volume of solution added per dish, mL; 0.5 - volume of a vaccine dose, mL.
3	Calculate the arithmetic average of the results for each dilution	$N_{av} = (N_i + N_{i+1}) / 2$ , where $N_i; N_{i+1}$ - number of RCA for each dilution 2 - number of iterations

Stamp here CAD

Medgamal Branch, FSBI N.F. Gamaleya NRCEM of the Ministry of Health of Russia	SOP.15.650.01-F.01
Division: Biological and process control department	Page 5 of 9
Type of Document: Control Testing Sheet No. <u>3</u>	<u>18.01 – 28.01.2021</u>
<b>Gam-COVID-Vac. Control Testing Parameter Specific Safety Component II</b>	

#### 4. Results of control work

Results recording date: 28.01.2021


Table 1.1 Results recording

Preparing the test sample	Number of plaques		Average number of plaques in two iterations	Number of replication-competent adenoviruses per dose
	1st cultural dish	2nd cultural dish		
Negative control		-	-	-
<b>Positive control sample</b>				
Dilution 10 <sup>-7</sup>	>200	-		
Dilution 10 <sup>-8</sup>	20	-		
Dilution 10 <sup>-9</sup>	2	-		
<b>1. Batch II-050121 Pharmstandard-UfaVITA OJSC</b>				
Dilution 10 <sup>-2</sup>	0	0	0	<i>Less than 50 / dose</i>
Dilution 10 <sup>-3</sup>	0	0		
Dilution 10 <sup>-4</sup>	0	0		
<b>2. Batch II-060121 Pharmstandard-UfaVITA OJSC</b>				
Dilution 10 <sup>-2</sup>	0	0	0	<i>Less than 50 / dose</i>
Dilution 10 <sup>-3</sup>	0	0		
Dilution 10 <sup>-4</sup>	0	0		
<b>3. Batch II-070121 Pharmstandard-UfaVITA OJSC</b>				
Dilution 10 <sup>-2</sup>	0	0	0	<i>Less than 50 / dose</i>
Dilution 10 <sup>-3</sup>	0	0		
Dilution 10 <sup>-4</sup>	0	0		
<b>4. Batch II-30120 BINNOPHARM</b>				
Dilution 10 <sup>-2</sup>	0	0	0	<i>Less than 50 / dose</i>
Dilution 10 <sup>-3</sup>	0	0		
Dilution 10 <sup>-4</sup>	0	0		
<b>5. Batch ZB00521 JSC GENERIUM</b>				
Dilution 10 <sup>-2</sup>	0	0	0	<i>Less than 50 / dose</i>
Dilution 10 <sup>-3</sup>	0	0		
Dilution 10 <sup>-4</sup>	0	0		
<b>6. Batch II-040120 CJSC LEKKO</b>				
Dilution 10 <sup>-2</sup>	0	0	0	<i>Less than 50 / dose</i>
Dilution 10 <sup>-3</sup>	0	0		
Dilution 10 <sup>-4</sup>	0	0		

Estimate

Stamp here CAD

**Appendix № 3**  
**Official letters from Ministry of Health and  
Roszdravnadzor.**

  
Министерство здравоохранения  
Российской Федерации  
**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ  
В СФЕРЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
(РОСЗДРАВНАДЗОР)**  
Славянская ул. 4, стр. 1, Москва, 109374  
Телефон: (495) 698 45 38; 698 15 74

ООО «Вакцина человека»  
Пресненская набережная, д. 8,  
стр. 1, этаж 7, пом. 1,  
г. Москва, 123112

03.05.2021 № 02-24306/21  
На № В4-11/05.21 от 03.05.2021


О рассмотрении обращения

Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения в рамках компетенции рассмотрела обращение ООО «Вакцина человека», касающееся проведения контроля качества лекарственного препарата «Гам-КОВИД-Вак Комбинированная векторная вакцина для профилактики коронавирусной инфекции, вызываемой вирусом SARS-CoV-2» (далее – «Гам-КОВИД-Вак»), и сообщает.

В соответствии с правилами выдачи разрешения на ввод в гражданский оборот серии или партии иммунобиологического лекарственного препарата, выдачи заключения о соответствии серии или партии иммунобиологического лекарственного препарата требованиям, установленным при его государственной регистрации, утвержденными постановлением Правительства Российской Федерации от 26 ноября 2019 года N 1510 «О порядке ввода в гражданский оборот лекарственных препаратов для медицинского применения», ФГБУ «Информационно-методический центр по экспертизе, учету и анализу обращения средств медицинского применения» Росздравнадзора проводит испытания качества иммунобиологических лекарственных препаратов.

По результатам испытаний по показателю «Специфическая безопасность» методом «Реакция бляшкообразования на культуре клеток A549» ста сорока пяти серий второго компонента лекарственного препарата «Гам-КОВИД-Вак», введенных в гражданский оборот на территории Российской Федерации, репликативно-компетентных аденовирусов выявлено не было.

Дополнительно информируем, что 30.04.2021 Минздравом России утверждено изменение в документы, содержащиеся в регистрационном досье на зарегистрированный лекарственный препарат «Гам-КОВИД-Вак», согласно которому показатель «Специфическая безопасность» не превышает 50 репликативно-компетентных аденовирусов на дозу.

Врио руководителя  Д.В. Пархоменко

Кудрявцева Е.М.  
8 (499) 578 06 65



## ANEXO IV

### Parecer do Dr. Amilcar Tanuri (2 de maio de 2021)

**Referência:** Importação da vacina Sputnik V pelo Consorcio Nordeste e os 9 governos estaduais que o integram.

**Objeto específico deste parecer:** O presente parecer é emitido em referência à segurança e à eficácia da vacina Sputnik V.

**Autor do parecer:** Amilcar Tanuri, Médico e Doutor em Genética e Virologia. Professor Titular da UFRJ.

**Qualificação Profissional do Parecerista:** Médico formado pela UFRJ em 1982, com Mestrado e Doutorado na área de virologia. O pós-doutorado foi realizado no *Center for Disease Control and Prevention* (CDC), Atlanta, EUA na área de retrovirologia básica. É Professor Titular e chefe do Laboratório de Virologia Molecular do Departamento de Genética da UFRJ d. Foi *Senior Research Fellow* no *Global AIDS Program* do CDC, Atlanta, EUA (2003 a 2006) e em 2006 passou a ser um *Senior Research Fellow* do ICAP na Columbia University com apoio aos projetos envolvendo os países Africanos na epidemia de HIV/AIDS. Suas linhas de pesquisa concentram-se no desenvolvimento de moléculas antivirais e mais especificamente antirretrovirais com experiência junto à indústrias farmacêuticas nacionais em projetos sobre de um inibidor da protease do HIV-1. O parecerista tem mais de 390 artigos científicos publicados e tem Fator H de 46 no *Web of Science* (2021). Link para o CV Lattes <http://lattes.cnpq.br/2291552542715323>

**Justificativa do Parecer:** “A situação epidemiológica do Brasil em relação à COVID-19 não é nada confortável. Estamos vivendo uma 2ª onda com uma média de mortes diárias fluando entre 2.000 e 3.000 e o último mês de abril foi o mais letal de nossa pandemia com 86.000 mortes. Esta nova onda é dominada por variantes do Sars-CoV-2 mais transmissíveis e aparentemente com potencial patogênico maior. Dentre estas variantes temos a variante P1 que foi inicialmente identificada em Manaus em dezembro de 2020 e agora ela já está dominando a segunda onda em todo território nacional. O problema desta variante P1 é que ela já é parcialmente resistente aos anticorpos induzidos nos pacientes infectados na 1ª onda e até para os anticorpos induzidos por várias vacinas em uso no mundo. A geração destas variantes está relacionada à multiplicação viral em novos pacientes que contenham anticorpos em baixa concentração. Assim, para diminuirmos a chance de seleção de novas variantes é necessária a redução da circulação dos vírus com medidas gerais de restrições de circulação, distanciamento social, uso de máscaras e outras medidas de etiqueta respiratória. Neste tocante, a vacinação em massa e rápida é uma estratégia importantíssima para aumentar a população não suscetível ao vírus e dificultar a circulação viral baixando a chance de aparecimento de novas variantes. A

vacinação em massa e rápida vai salvar vidas diminuindo as novas infecções e também a chance de agravamento em pacientes que possam se infectar depois da vacinação. E o mais importante, uma vacinação maciça agora pode evitar o aparecimento de uma 3ª onde que pode vir com vírus ainda mais resistentes a imunidade conferida as vacinas em uso.

A estratégia do Ministério da Saúde de aquisição de vacinas e produção nacional não conseguiu suprir a necessidade do PNI com o número suficiente para que pudéssemos vacinar nossa população em um tempo hábil. Se continuarmos com este ritmo somente iremos imunizar 70% da população brasileira no final de 2021.

O Consórcio Nordeste e os 9 governos estaduais que o integram, extremamente preocupados com as dificuldades de disponibilidade de vacinas para o Brasil, conseguiu avançar na negociação das vacinas do Instituto Gamaleya, de Moscou, a Sputnik V. Esta vacina utiliza como vetores virais o Ad26 na primeira e o Ad5 na segunda dose, uma estratégia também já utilizada pela Astra Zeneca e Janssen, que já está em uso generalizado no mundo.

A vacina Sputnik V já teve sua eficácia e segurança analisadas em vários testes clínicos publicados em revistas de alto nível mostrando uma eficácia de 91.6% e um ótimo perfil de efeito adverso<sup>1,2</sup>. Este nível de eficácia é o maior dentre as vacinas de vetor adenoviral, como AstraZeneca, que apresentou uma eficácia de 76%<sup>3,4,5</sup> e a da J&J que teve uma eficácia de 85,4%<sup>6,7</sup>. A eficácia da Sputnik V é comparável com as vacinas a base de mRNA da BioNTech-Pfizer com uma eficiência de 95%<sup>8</sup> e da Moderna com 94, 1 %<sup>9,10</sup>. Além disso, a Sputnik V tem uma temperatura de armazenagem de -18°C facilitando sua aplicação nas condições brasileiras.

A Gamaleya usa o ADV5 com deleção no gene E1 e E3 onde eles inserem o gene da Spike do SARS COV2 sob o comando do promotor do CMV. A linhagem de célula utilizada na produção deriva da HEK293 em que foi inserido no seu genoma o gene E1 do Adv 5 para transcomplementar o vírus recombinante Adv5 da vacina. Este gene E1 da célula HEK293 tem somente 34 pares de base de homologia com o vírus Adv5 recombinante da vacina tornando a recombinação homóloga e não homóloga muito improvável, e assim, evitando a formação de vírus replicante (RCA) na fase de replicação na etapa de fabricação dos lotes da vacina. Embora o limite de presença de adenovírus replicante (RCA) em uma dose que tenha de ser injetada no ser humano foi estabelecido pelo FDA como sendo 1 RCA por 3x10<sup>10</sup> partículas inoculadas. Se formos aplicar este parâmetro na vacina Sputnik V poderíamos ter até 3,3 RCA por dose (este cálculo foi baseado na dose da Sputnik V de 10<sup>11</sup>). A época do licenciamento da vacina Sputnik V pela Agência Regulatória Russa foi aprovada um limite de 100 RCA por dose vacinal (limite **30 x maior** que o FDA). Contudo, devido às medidas de desenho genético da vacina, durante a fase de desenvolvimento da vacina e na sua industrialização, os testes de RCA sempre deram não detectáveis nas doses vacinais amostradas. Assim, todos os lotes vacinais produzidos da vacina e testados por uma empresa terceirizada JBC Generium (<https://www.generium.ru/en/about/>) não apresentaram vírus replicantes detectáveis (RCA) nas doses testadas.

Novos dados de biodisponibilidade em camundongos Blab C fornecidos pelo Instituto Gamaleya mostraram que a dose vacina permanece somente no ponto de injeção intramuscular e as concentrações de vírus e em outros órgãos são desprezíveis. Este fato corrobora para a segurança maior da vacina e é um dado que não é compatível com a presença de vírus replicante nas doses das vacinas. Se houvesse a presença destes vírus replicantes o vírus estaria distribuído em vários órgãos do camundongo.

Outro dado importante sobre a segurança é que a vacina Sputnik V já vem sendo utilizada na Argentina e México, onde mais de 6 milhões de doses já foram utilizadas. As

primeiras avaliações feitas pelo Ministério da Saúde destes dois países indicaram uma alta eficiência da vacina e um perfil de segurança muito bom quando comparado com as vacinas, como a da AstraZeneca e Sinovac em uma população de profissionais da saúde<sup>11</sup>. O estudo de vacinação oficial do governo mexicano confirma que o Sputnik V é a vacina mais segura com 7 vezes menos efeitos adversos por dose administrada do que as vacinas de mRNA. Já o estudo argentino com profissionais de saúde vacinados apontou que a taxa de infecção de COVID-19 após a primeira dose de vacinação é 2 vezes menor para o Sputnik V em comparação com outras vacinas. Além disso, nenhum caso de morte foi registrado no estudo após a vacinação completa contra o Sputnik V<sup>11</sup>. Estes dados de avaliação pós implementação são de suma importância para se aferir a segurança e eficácia das vacinas na vida real.

Assim, a pergunta que temos que fazer é: qual a chance ou plausibilidade que uma vacina que é feita com uma tecnologia já consagrada, como os vetores de adenovírus e já utilizada pelas vacinas de COVID-19 da AstraZeneca e J&J, poderia causar mais efeitos colaterais sérios que essas últimas? Os dados supra indicados mostram ao contrário.

Os benefícios para a população são enormes. Uma eficácia de 91,6% pode salvar milhares de vidas somente no correr de 2021 no Brasil. Assumindo-se uma previsão de mortes até dezembro de 2021 pode ser de 300.000 a 500.000. A utilização de uma vacina com 90% de eficácia reduziria este número para 27.000 a 45.000.

A Anvisa negou a importação da Sputnik V basicamente por ausência documental e acho que para sanar estas pendências vai ainda demorar muito e perderemos o tempo adequado de vacinar rapidamente a população brasileira.

#### **Pelos motivos expostos acima pode-se concluir que:**

Vacina é uma arma importante para tentarmos barrar a 2ª e próximas ondas da COVID-19.

O Brasil não está tendo vacinas suficientes para fazermos uma vacinação maciça e rápida.

A vacina Instituto Gamaleya pode disponibilizar a vacina Sputnik V em grandes quantidades para o Consórcio Nordeste e os 9 governos estaduais, além de vários municípios do Brasil.

A Sputnik V tem um perfil de eficácia e segurança muito bons já provadas por testes clínicos fase 1/2 e 3 já publicados em revistas científicas de alto impacto e em avaliação de campo após vacinação em massa.

Dessa forma, poderíamos solicitar a importação da vacina Sputnik V de forma emergencial e de caráter excepcional, adicionando salvaguardas para assegurar a qualidade dos lotes importados da Rússia preservando a saúde da população brasileira. Para isso, poderíamos solicitar que o Instituto Gamaleya providenciasse para cada lote a ser importado uma série de laudos analíticos completos com metodologia validada em que se avaliaria:

- 1- Laudo de quantidade de vírus recombinante em cada dose (limite aceitável  $1 \pm 0,05 \times 10^{11}$ ) do lote enviado. Esta análise asseguraria que cada lote importado tenha a quantidade mínima de vírus recombinante AD26 e AD5 para o efeito vacinal ótimo em cada dose.

- 2- Laudo de Quantidade de vírus recombinante replicante em cada dose (limite aceitável  $3 \text{ RCA}/1 \times 10^{11}$ ) do lote enviado. Esta análise asseguraria que cada lote importado tenha a quantidade máxima tolerada de recombinante replicante em cada dose.
- 3- Laudo de esterilidade microbiológica dos lotes. Esta análise asseguraria que cada lote importado não tenha presença de outros microrganismos (bactérias, fungos e microplasma) que possam ameaçar a segurança dos vacinados. Esta análise sanaria o questionamento sobre o processo de esterilização das doses colocado pela ANVISA.
- 4- Laudo de ausência de vírus adventícios pertinentes nas células de produção do lote na indústria. Esta análise asseguraria que o lote de células de crescimento do D26 e AD5 não esteja contaminado com outros vírus que possam causar problemas aos indivíduos vacinados

Estes laudos sanariam a maioria das críticas feitas pela ANVISA no tocante a área de segurança na fabricação da vacina. Além destes laudos exigidos na importação de todos os lotes importados, os governadores se comprometeriam a fazer um estudo contínuo de farmacovigilância para evitar que casos de efeitos colaterais graves passem despercebidos e se tivermos uma alta taxa de efeitos colaterais graves com o uso da Sputnik V a vacinação seria interrompida. De fato, o estudo contínuo de farmacovigilância já é uma exigência contida no Artigo 12 da RESOLUÇÃO RDC Nº 476, DE 10 DE MARÇO DE 2021 da ANVISA para importação das vacinas da COVID-19 com caráter emergencial (vide abaixo).



Art. 12. O dossiê para a concessão de autorização excepcional e temporária para importação de medicamentos e vacinas para Covid-19 registrados por autoridades sanitárias estrangeiras nos termos do art. 10 deve ser instruído com os seguintes documentos:

I - declaração informando tratar-se de importação de medicamento ou vacina para Covid-19 nos termos da Lei nº 14.124/2021 ou nº 14.125/2021;

II - no caso de vacinas, declaração assinada pelo chefe do Poder Executivo e pelo Secretário de Saúde que ateste o descumprimento do Plano Nacional de Operacionalização da Vacinação contra a Covid-19 ou daquele que vier a substituí-lo, no caso da importação ser realizada por Estados, Municípios e pelo Distrito Federal;

III - **declaração que ateste a adoção das estratégias de monitoramento e cumprimento das diretrizes de farmacovigilância, conforme modelo Anexo a esta Resolução;**

IV - comprovação de registro por autoridade sanitária internacional nos termos do art. 10; e

V - Licenciamento de importação (LI) registrado no SISCOMEX.

§ 1º Fica dispensada a apresentação de demais documentos previstos na Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 81, de 5 de novembro de 2008, bem como a restrição quanto à liberação sob Termo de Guarda e Responsabilidade contida no artigo 4º da Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 234, de 17 de agosto de 2005.

§ 2º A manifestação da Anvisa sobre o pedido de autorização excepcional e temporária para a importação de medicamentos e vacinas para Covid-19 de que trata o caput será emitida em até 07 (sete) dias úteis a contar do protocolo do processo de importação junto à Anvisa.

§ 3º Anvisa poderá requerer, fundamentadamente, a realização de diligências para complementação e esclarecimentos sobre os dados de qualidade, de eficácia e de segurança dos medicamentos e vacinas para Covid-19.

§ 4º As solicitações de esclarecimento pela Anvisa suspenderão a contagem do prazo determinado no § 2º até que sejam atendidas.

Essas medidas excepcionais cessariam quando a Sputnik V for registrada no Brasil pela ANVISA”.

## Referências

- 1- Logunov DY, Dolzhikova IV, Zubkova OV, et al. Safety and immunogenicity of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine in two formulations: two open, non-randomised phase 1/2 studies from Russia. Lancet. 2020;396(10255): 887-897.
- 2- Logunov DY, Dolzhikova IV, Shcheblyakov DV, et al. Safety and efficacy of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine: an interim analysis of a randomised controlled phase 3 trial in Russia. Lancet 2021; published online Feb 2. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00234-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00234-8).
- 3- Folegatti PM, Ewer KJ, Aley PK, et al. Safety and immunogenicity of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine against SARS-CoV-2: a preliminary report of a phase 1/2, single-blind, randomised controlled trial. Lancet. 2020;396(10249):467-478.

- 4- 13. Voysey M, Clemens SAC, Madhi SA, et al. Safety and efficacy of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine (AZD1222) against SARS-CoV-2: an interim analysis of four randomised controlled trials in Brazil, South Africa, and the UK. *Lancet*. 2021;397(10269):99-111.
- 5- Ramasamy MN, Minassian AM, Ewer KJ, et al. Safety and immunogenicity of ChAdOx1 nCoV-19 vaccine administered in a prime-boost regimen in young and old adults (COV002): a single-blind, randomised, controlled, phase 2/3 trial. *Lancet*. 2021;396(10267):1979-1993.
- 6- Sadoff J, Le Gars M, Shukarev G, Heerwegh D, Truyers C, de Groot AM, Stoop J, Tete S, Van Damme W, Leroux-Roels I, Berghmans PJ, Kimmel M, Van Damme P, de Hoon J, Smith W, Stephenson KE, De Rosa SC, Cohen KW, McElrath MJ, Cormier E, Scheper G, Barouch DH, Hendriks J, Struyf F, Douoguih M, Van Hoof J, Schuitemaker H. Interim Results of a Phase 1-2a Trial of Ad26.COVS.S Covid-19 Vaccine. *N Engl J Med*. 2021 Jan 13;NEJMoa2034201. doi: 10.1056/NEJMoa2034201. Epub ahead of print. PMID: 33440088; PMCID: PMC7821985.
- 7- Sadoff J, Gray G, Vandebosch A, Cárdenas V, Shukarev G, Grinsztejn B, Goepfert PA, Truyers C, Fennema H, Spiessens B, Offergeld K, Scheper G, Taylor KL, Robb ML, Treanor J, Barouch DH, Stoddard J, Ryser MF, Marovich MA, Neuzil KM, Corey L, Cauwenberghs N, Tanner T, Hardt K, Ruiz-Guiñazú J, Le Gars M, Schuitemaker H, Van Hoof J, Struyf F, Douoguih M; ENSEMBLE Study Group. Safety and Efficacy of Single-Dose Ad26.COVS.S Vaccine against Covid-19. *N Engl J Med*. 2021 Apr 21. doi: 10.1056/NEJMoa2101544. Epub ahead of print. PMID: 33882225.
- 8- Polack FP, Thomas SJ, Kitchin N, Absalon J, Gurtman A, Lockhart S, Perez JL, Pérez Marc G, Moreira ED, Zerbini C, Bailey R, Swanson KA, Roychoudhury S, Koury K, Li P, Kalina WV, Cooper D, Frenck RW Jr, Hammitt LL, Türeci Ö, Nell H, Schaefer A, Ünal S, Tresnan DB, Mather S, Dormitzer PR, Şahin U, Jansen KU, Gruber WC; C4591001 Clinical Trial Group. Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine. *N Engl J Med*. 2020 Dec 31;383(27):2603-2615. doi: 10.1056/NEJMoa2034577. Epub 2020 Dec 10. PMID: 33301246; PMCID: PMC7745181.
- 9- Baden LR, El Sahly HM, Essink B, Kotloff K, Frey S, Novak R, Diemert D, Spector SA, Rouphael N, Creech CB, McGettigan J, Khetan S, Segall N, Solis J, Brosz A, Fierro C, Schwartz H, Neuzil K, Corey L, Gilbert P, Janes H, Follmann D, Marovich M, Mascola J, Polakowski L, Ledgerwood J, Graham BS, Bennett H, Pajon R, Knightly C, Leav B, Deng W, Zhou H, Han S, Ivarsson M, Miller J, Zaks T; COVE Study Group. Efficacy and Safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 Vaccine. *N Engl J Med*. 2021 Feb 4;384(5):403-416. doi: 10.1056/NEJMoa2035389. Epub 2020 Dec 30. PMID: 33378609; PMCID: PMC7787219.
- 10- Anderson EJ, Rouphael NG, Widge AT, Jackson LA, Roberts PC, Makhene M, Chappell JD, Denison MR, Stevens LJ, Pruijssers AJ, McDermott AB, Flach B, Lin BC, Doria-Rose NA, O'Dell S, Schmidt SD, Corbett KS, Swanson PA 2nd, Padilla M, Neuzil KM, Bennett H, Leav B, Makowski M, Albert J, Cross K, Edara VV, Floyd K, Suthar MS, Martinez DR, Baric R, Buchanan W, Luke CJ, Phadke VK, Rostad CA, Ledgerwood JE, Graham BS, Beigel JH; mRNA-1273 Study Group. Safety and Immunogenicity of SARS-CoV-2 mRNA-1273 Vaccine in Older Adults. *N Engl J Med*. 2020 Dec 17;383(25):2427-2438. doi: 10.1056/NEJMoa2028436. Epub 2020 Sep 29. PMID: 32991794; PMCID: PMC7556339.
- 11- <https://static.poder360.com.br/2021/04/sputnik-v-nota-decisao-anvisa-27abr2021.pdf>