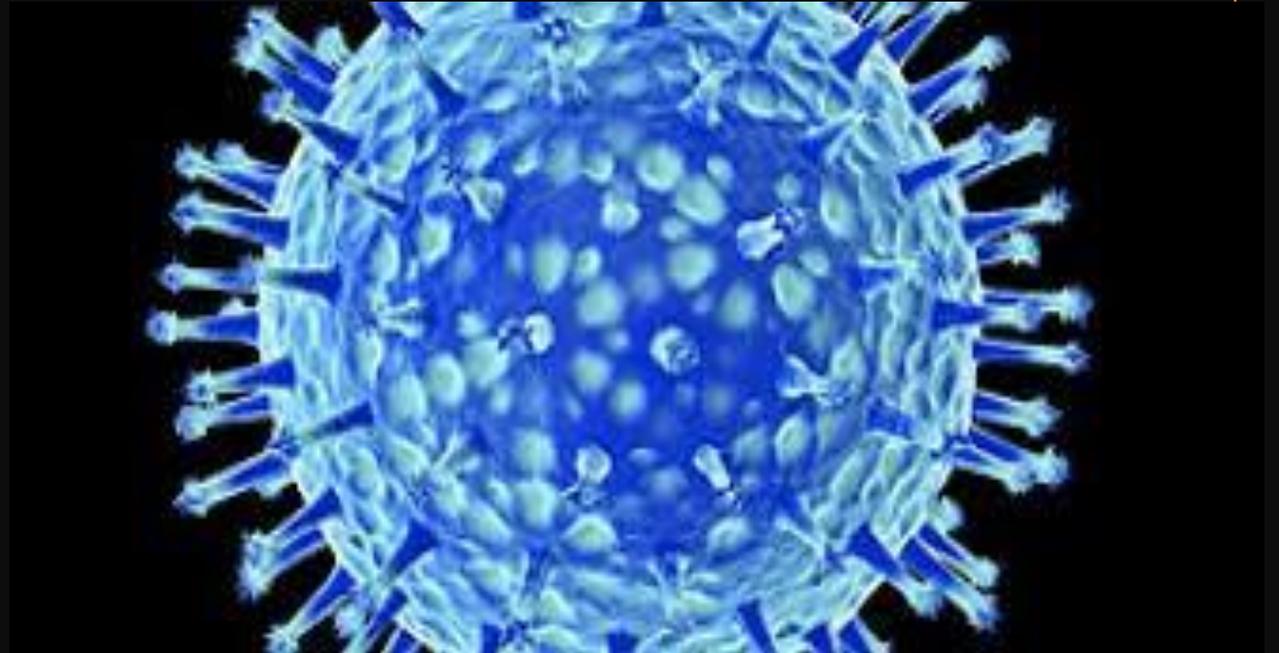


Vaccines technologies and production challenges

04th March 2021



Content

- Vaccines historical context
- Classical and new strategies
- Vaccine pharma production. Example of flu vaccine
- New challenges with new vaccines technologies
 - Primary packaging materials
 - Aseptic filling
 - AVI
 - TOR control
 - Ultralow temperature transport and storage

Pandemic scenario



Spanish flu
1918-1920



Asian flu
1957-1958



AIDS pandemic :
1981- YTD



H1N1 Swine
Flu Pandemic
:2009-2010



West Africa
Ebola 2014-
2016



Zika Virus :
2015-YTD

- 50 Million Estimated deaths globally in 1918 influenza pandemic
- The Asian Flu pandemic was another global showing for influenza. With its roots in China, the disease claimed more than 1 million lives.
- AIDS has claimed an estimated 35 million lives since it was first identified
- \$45 – 55 Billion Loss Estimated economic impact of Swine flu pandemic 2009. The virus infected as many as 1.4 billion people across the globe and killed between 151,700 and 575,400 people,



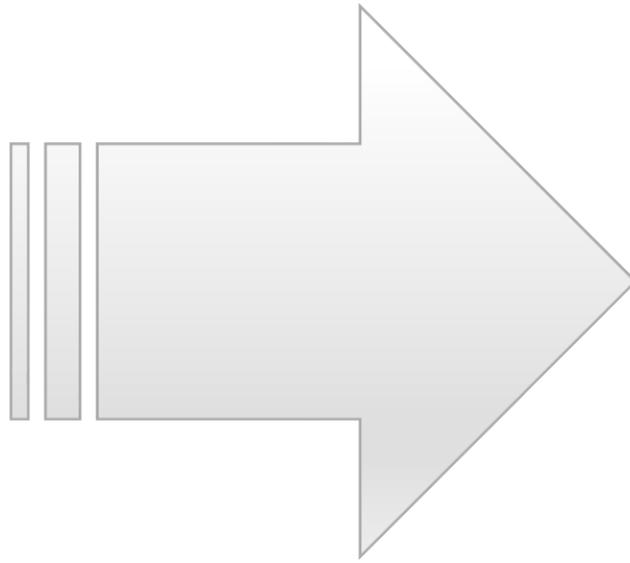
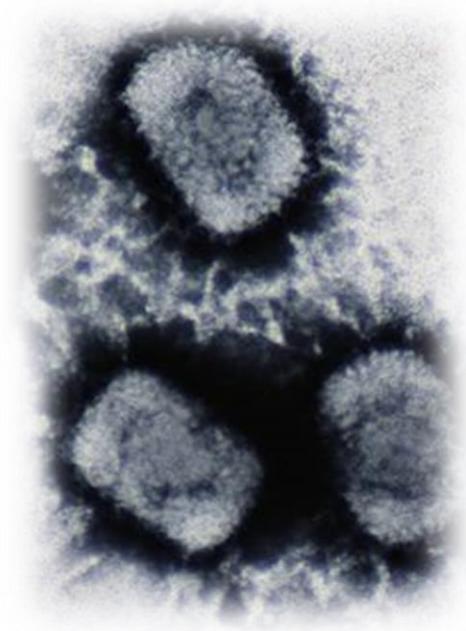
Pandemic scenario

- ❑ El único camino de regreso a la vida anterior : la vacuna contra el nuevo coronavirus—
- ❑ Solo hay 26 enfermedades con vacuna, según los datos de la OMS. Llevar una vacuna del laboratorio a la calle ha requerido, hasta ahora, un promedio de más de 10 años. (e.g HIV lleva 35 años en desarrollo)
- ❑ A excepción de la potabilización del agua, ni siquiera el uso de los antibióticos, ha reducido tanto la mortalidad y permitido el crecimiento de la población
- ❑ En los 12 meses transcurridos desde que se identificó el nuevo coronavirus en la ciudad china de Wuhan se han desarrollado 301 candidatos a vacuna y 21 de ellos ya se están probando en humanos en EE UU, China, Alemania y Reino Unido.
 - Operación Velocidad Warp en US.
 - Acelerador ACT (OMS, alianza GAVI, CEPI)
 - Inclusive COVID-19 vaccine alliance (France, Germany, Netherland and Italy)
- ❑ El esfuerzo en fondos de ayudas financieras al desarrollo y producción han sido enormes:
 - AZ : \$1,2 billion (European Commission)
 - Moderna : \$483 million (BARDA)
 - Novavax: \$1,6 billion (Federal funding)



Vaccines historical context

- En 1956 la OMS decidió erradicar la viruela a través de la vacunación y se alcanzó el objetivo en 1980
- Le han seguido la poliomielitis (2003), el tétanos neonatal , la rubeola congénita o el sarampión (que repunta ahora al ritmo de la moda negacionista)
- Y afortunadamente a la estrategia clásica de obtención de estas vacunas, se han añadido nueva estrategias fruto del enorme avance biotecnológico en áreas como la tecnología del ADN recombinante, la bioquímica de proteínas, la química de polisacáridos...



Classical and new strategy

Vacunas de gérmenes vivos atenuados

- Constituidas por bacterias o virus que han sido modificados mediante manipulaciones durante la preparación de la vacuna para perder su poder patógeno , pero son capaces de reproducirse en el organismo estimulando la inmunidad humoral (a través de anticuerpos) y celular (a través de linfocitos T). Suele ser suficiente una sola dosis o administrar una de recuerdo .
- No todos los gérmenes no permiten conseguir este tipo de vacunas
- Existe el riesgo de transmisión desde el vacunado que puede ser relevante frente a personas inmunodeficientes o inmunosuprimidas..
- Puede revertir a su forma virulenta
- Habitualmente se fabrican a partir de cultivo in vitro de virus animal, que causa una enfermedad veterinaria similar a la humana
- Ejemplos Bacterianas : Tuberculosis, Tifus Víricas: Sarampión,rubeola,paperas,varicela,...
- La atenuación mediante cultivos celulares como técnica es posible desde los años 40 , y se consigue mediante la propagación del germen (habitualmente un virus) en dichos cultivos in vitro con el objetivo de atenuar su patogenicidad mediante “pases” en células o condiciones de crecimiento que no encuentran habitualmente in vivo .Para mejorar la eficacia de algunas vacunas, se han desarrollado virus reasociados ("reassortant", con genomas mixtos procedentes de cepas distintas), que se obtienen tras una coinfección de un cultivo con dos virus diferentes, habitualmente uno animal y otro humano de forma que los virus resultantes contienen segmentos de genes de los dos virus parenterales. Se aíslan entonces, los que contienen mayoritariamente genes del virus animal, junto con genes del humano que sean responsables de la respuesta inmune, obteniéndose así fenotipos atenuados para humanos. Esta estrategia se ha empleado por ejemplo en vacunas de la gripe, en la que, el virus virulento proporciona los genes que codifican las glucoproteínas de superficie inmunogénicas y un virus atenuado aporta la mayoría de los genes y, con ellos, el fenotipo de atenuación



Classical and new strategy

Vacunas de gérmenes muertos o inactivados

- Constituidas por bacterias o virus completos que se inactivan por métodos fisico-químicos (calor, fenol, formaldehido, Bpropiolactona;
- Se mantiene el epitoma en los antígenos para genera respuesta inmune
- Inducen respuesta humoral (anticuerpos)
- Ejemplos : Influenza , Polio., Rabia Hepatitis A
- Son mejor toleradas pero la respuesta inmune es menor y requieren por ello varias dosis siempre para conseguir inmunidad adecuada
- Lo que obliga a la necesidad de aumentar su inmunogenicidad mediante la combinación con un adyuvante .



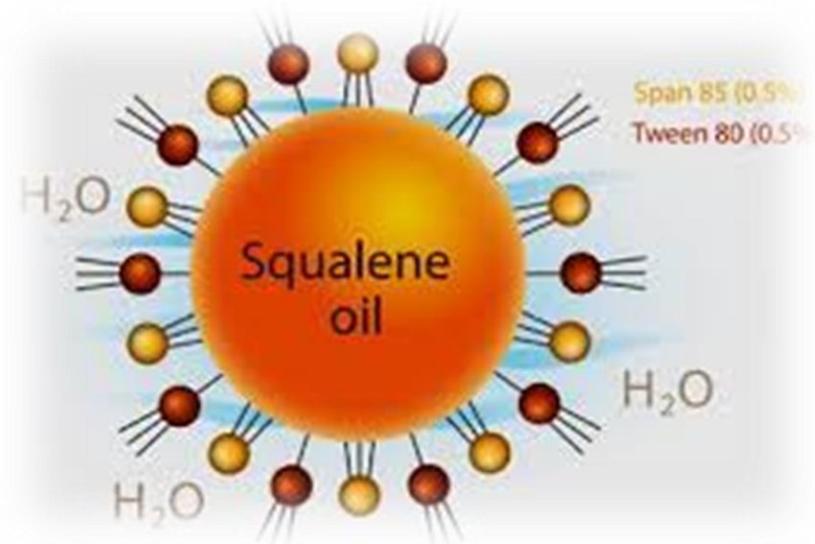
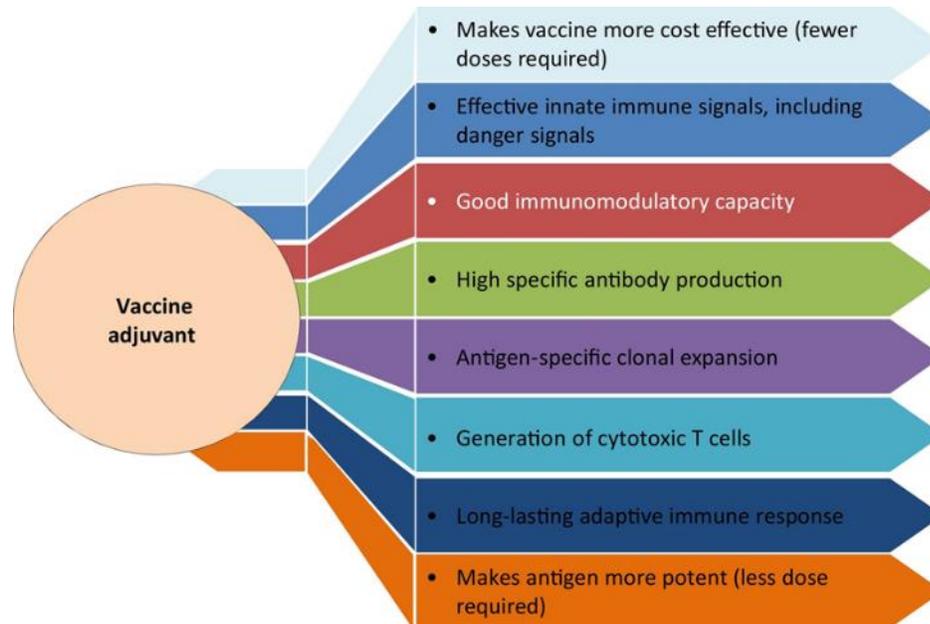
Inactivating Agents-

- **Formaldehyde** is used to inactivate bacterial products for toxoid vaccines, (these are vaccines that use an inactive bacterial toxin to produce immunity.)
- It is also used to kill unwanted viruses and bacteria that might contaminate the vaccine during production.
- Most formaldehyde is removed from the vaccine before it is packaged.
- It is used to inactivate **influenza virus, poliovirus, and diphtheria and tetanus toxins.**
- **β -propiolactone**, which is used to inactivate **rabies virus**
- **Glutaraldehyde**, which is used to inactivate toxins contained in **acellular pertussis vaccines.**

Classical and new strategy

Adyuvantes:

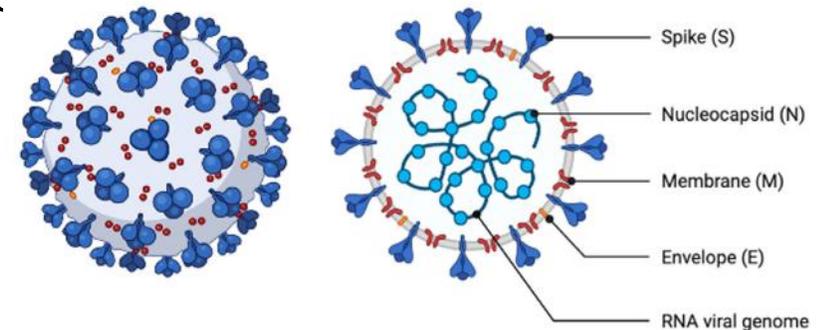
- Estabilizan al antígeno completo
- Aceleran la dispersión desde la inyección a los órganos linfoides
- Algunos favorecen la proliferación de linfocitos
- Reducen la cantidad de virus necesarios por vacuna
- Los únicos aprobados para uso humano son el hidróxido de aluminio ,el AS04 (derivado del lipopolisacárido de la pared Salmonella minnesota cepa R595, detoxificado por hidrólisis , purificado y adsorbido en hidróxido o fosfato de aluminio.) y el MF59 que es una emulsión oleosa de escualeno (sustancia natural que se encuentra en humanos, animales y plantas y que se purifica para la producción de la vacuna)



Classical and new strategy

Vacunas de subunidades:

- Aquellas que contienen fragmentos específicos del virus o componentes de la bacteria, polisacáridos capsulares purificados, o conjugados con una proteína transportadora que aumente la inmunogenicidad
- Los epitopos clave de la superficie de muchos virus pequeños, que generan respuestas inmunes protectoras (epitopos protectores), frecuentemente son muy conformacionales.
- El sistema inmune reconoce como intrusas esas proteínas superficiales o fragmentos bacterianos generando anticuerpos
- Son seguras y baratas de producir . Suelen requerir adjuvantes
- El defecto de estas vacunas es que los polisacáridos, al ser inmunógenos independientes de células T, son poco o nada inmunogénicos en niños menores de 2 años a causa del estado inmaduro de su sistema inmunitario y no inducen memoria inmunológica en niños mayores y adultos.
- Ejemplos típicos de estas vacunas son las empleadas contra meningococcos



Classical and new strategy

Vacunas toxoides:

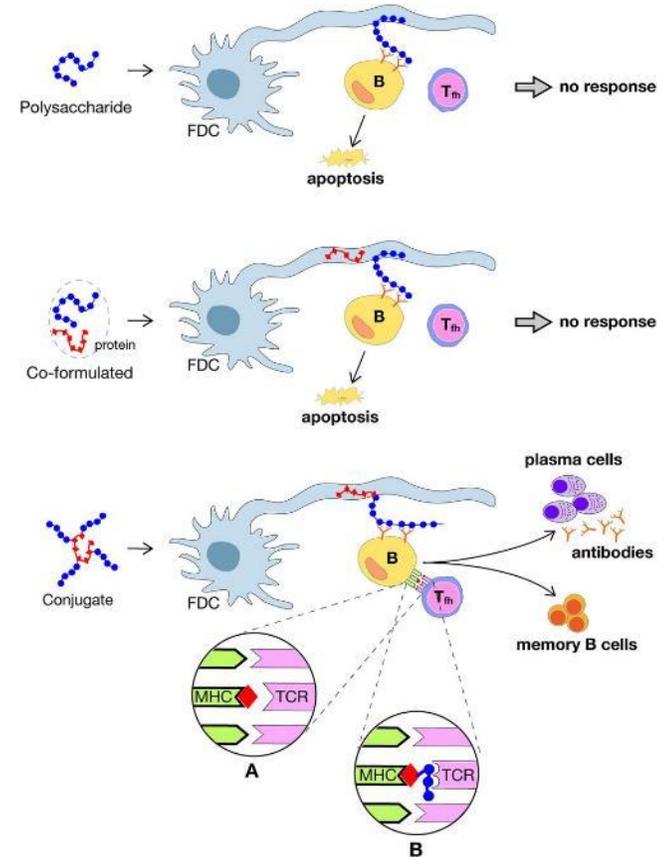
- Compuestas por toxinas producidas por microorganismos que se detoxifican químicamente eliminando su poder patógeno y conservando capacidad inmunogénica
- Se desnaturaliza la toxina con formalina
- Ejemplo: vacuna de la difteria y el tetanos



Classical and new strategy

Vacunas conjugadas

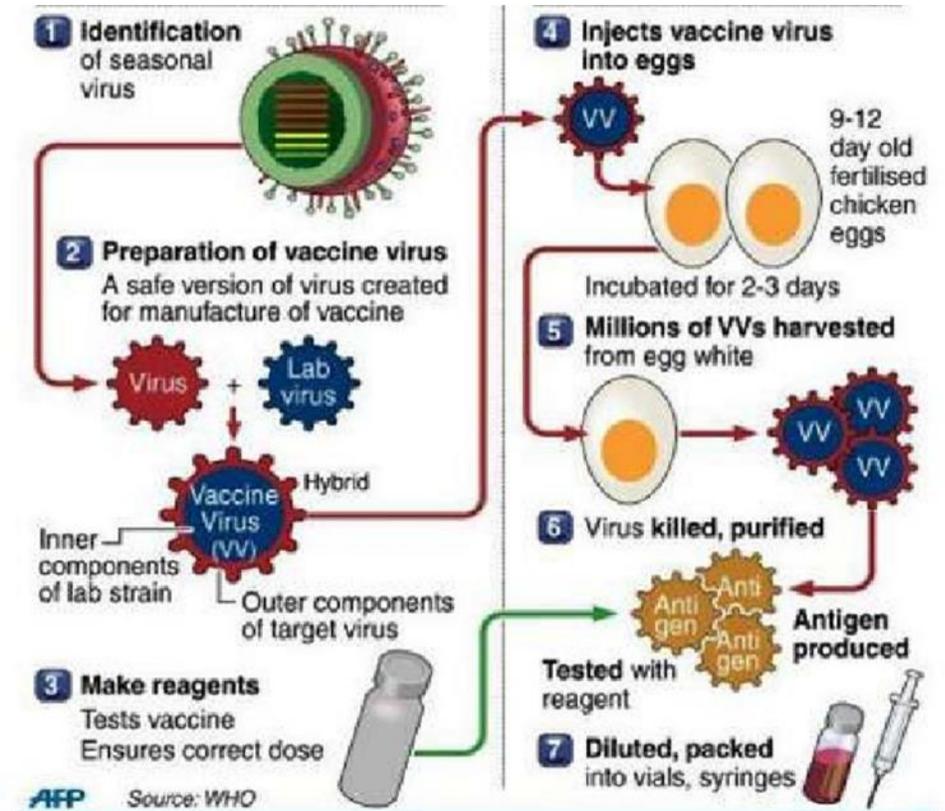
- Consiste en la conjugación de macromoléculas, mediante la unión covalente de un inmunógeno concreto con una proteína portadora, por métodos químicos. Su objetivo es el de convertir antígenos débilmente inmunogénicos, como los péptidos, o que no inducen una respuesta adecuada, como los polisacáridos, en inmunógenos efectivos.
- Ejemplos: Haemophilus influenzae type b (Hib), pneumococcus, serogroups C, A, W, and Y de meningococcus (contribuyendo a la eliminación virtual de meningitis bacterianas que causaban más de 1 MM de muertes al año)
- En la década de 1970 se desarrollaron vacunas compuestas de polisacáridos purificados contra el meningococo y el neumococo. Desafortunadamente, esas vacunas, aunque parcialmente inmunogénicas en adultos, fueron completamente incapaces de inducir una respuesta de anticuerpos en bebés y niños, la población para la que las vacunas eran más necesarias. El problema se resolvió en la década de 1980 los polisacáridos se vuelven muy inmunogénicos cuando se unen covalentemente a una proteína portadora



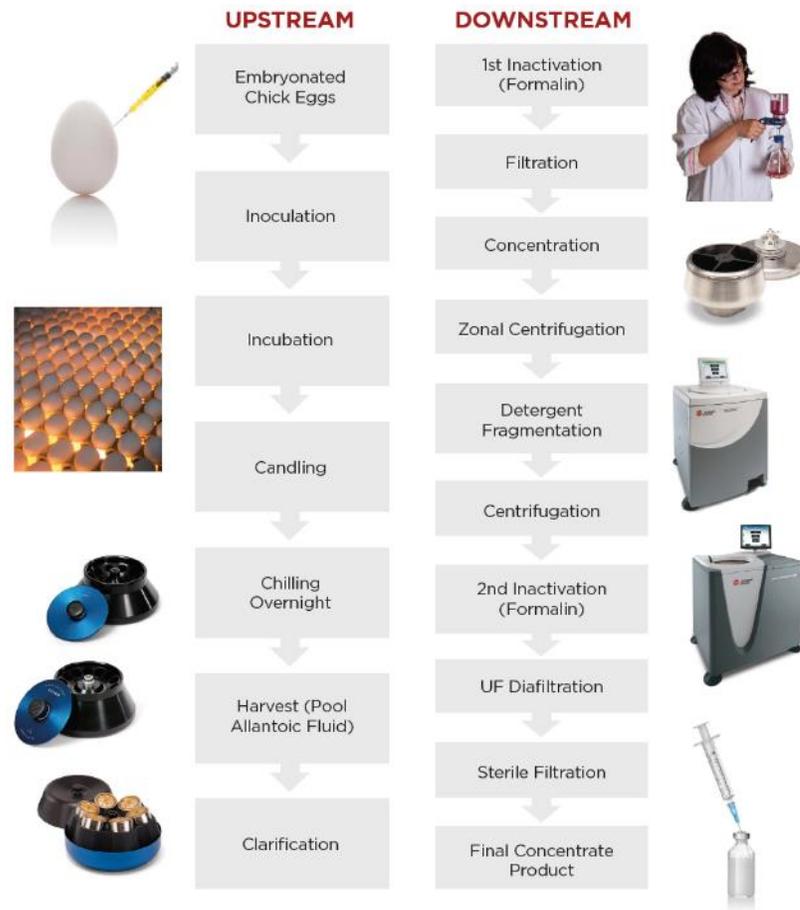
Classical and new strategy : Flu vaccine

Vacunas a base de huevos contra la gripe

- La forma más común de hacer vacunas contra la gripe es a través de un proceso de fabricación a base de huevos que ha sido utilizado durante más de 70 años.
- La fabricación de vacunas a base de huevos se utiliza para hacer tanto la vacuna inactivada (con virus muertos) (generalmente llamada "vacuna inyectable contra la gripe") como la vacuna atenuada en virus vivos (debilitados) (comúnmente llamada "vacuna contra la gripe en atomizador nasal").
- El proceso de producción con huevo comienza cuando un laboratorio de los CDC o de alguno de los socios en el Sistema de Respuesta y Vigilancia Global de la Influenza de la OMS aporta a fabricantes del sector privado los virus candidatos para la vacuna (CVV, en inglés) cultivados en huevos según los requisitos regulatorios actuales de la FDA.
- Luego estos CVV se inyectan en huevos de gallina fertilizados y se incuban por varios días para que los virus se repliquen.
- El líquido que contiene el virus se cosecha de los huevos. Para las vacunas inactivadas contra la gripe (p. ej., vacunas inyectables contra la gripe), los virus de la vacuna se inactivan (matan) y el antígeno del virus se purifica.
- El proceso de fabricación continúa con las pruebas de calidad, abastecimiento y distribución.



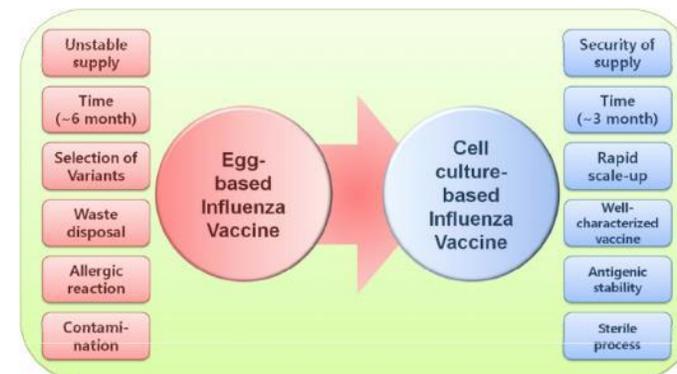
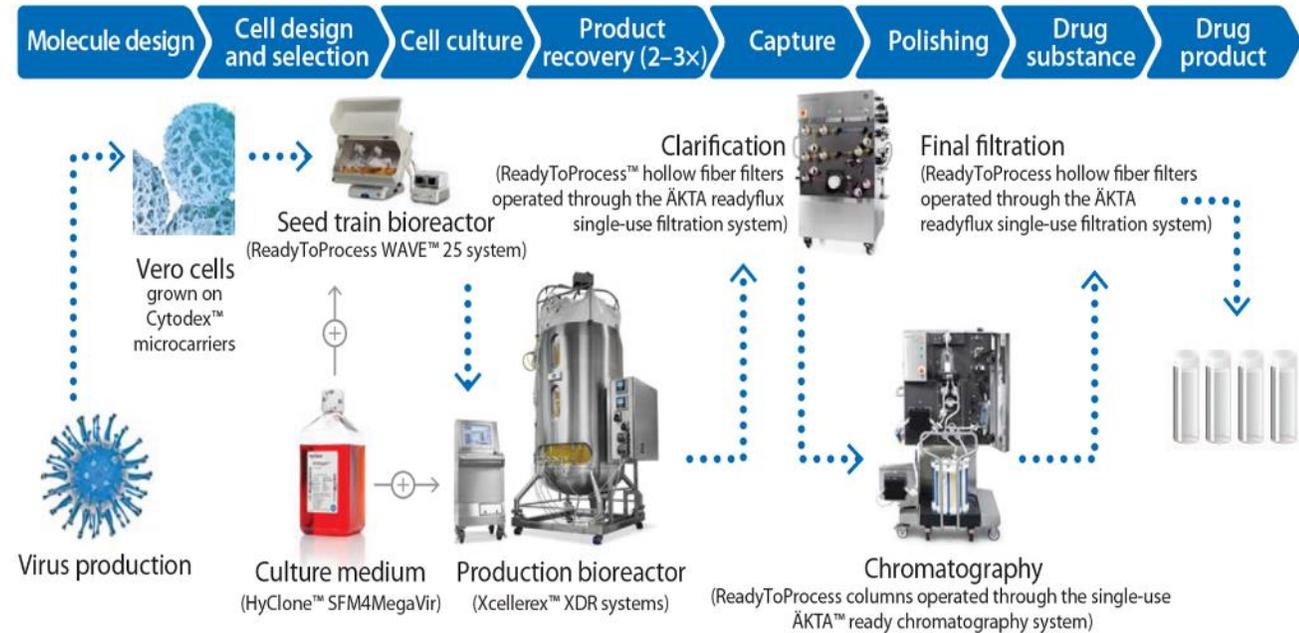
Classical and new strategy : Flu vaccine



Classical and new strategy : Flu vaccine

Vacunas a base de células contra la gripe

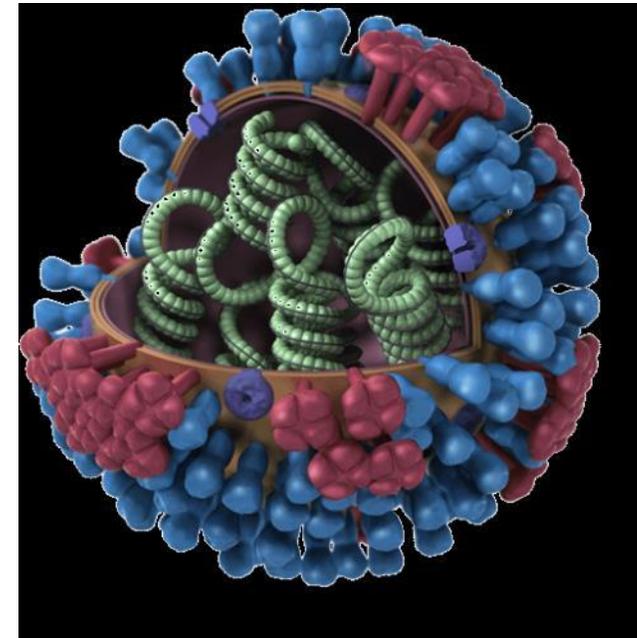
- aprobado por la FDA en el 2012. Hasta no hace mucho, este proceso de producción también se iniciaba con CVV cultivados en huevos según las regulaciones de la FDA.
- En 2016, la FDA emitió una aprobación para Seqirus, para la producción de CVV en cultivo celular.
- En primer lugar, los CDC o uno de sus laboratorios asociados, utilizan virus de la gripe que han sido cultivados en células para crear virus candidatos para la vacuna, que luego son proporcionados al fabricante de la vacuna.
- Luego, el fabricante inocula los CVV en células mamíferas 2 cultivadas (en lugar de hacerlo en huevos) y dejan que se reproduzcan (es decir, que se copien a sí mismos) durante unos días.
- Luego se recoge el líquido que contiene el virus de las células y se purifica el antígeno de los virus.
- El proceso de fabricación continúa con las etapas de purificación y prueba. La producción de vacunas celulares contra la gripe no requiere huevos de gallina porque los virus que se utilizan para fabricar la vacuna se cultivan en células animales.
- La tecnología de cultivo celular permite iniciar el proceso de fabricación de la vacuna contra la gripe más rápido.
- Si bien los virus utilizados para la vacuna en cultivo celular de las temporadas anteriores han sido cultivados en células, antes de la temporada 2019-2020, algunos de los virus otorgados al fabricante habían sido cultivados originalmente en huevos. Durante la temporada de gripe 2019-2020, los cuatro virus utilizados en la vacuna son derivados de células convirtiéndola en una vacuna sin huevos.



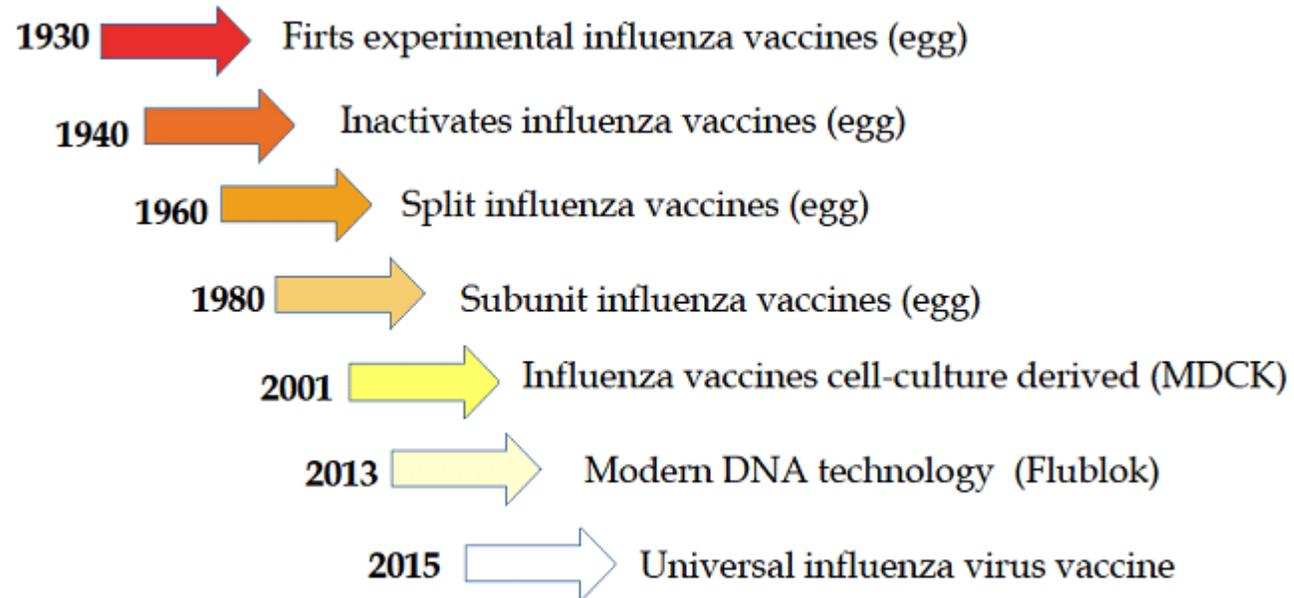
Classical and new strategy : Flu vaccine

Vacunas recombinantes contra la gripe

- Existe ya una tercera tecnología de producción de vacunas contra la gripe aprobada para usar en el mercado de los EE. UU. en 2013 y que implica el uso de la tecnología recombinante
- Las vacunas recombinantes contra la influenza no necesitan un virus candidato para la vacuna (CVV, por sus siglas en inglés) para su producción, ya que se fabrican a partir de la síntesis.
- Para fabricar una vacuna recombinante, los científicos primero obtienen el ADN, es decir las instrucciones genéticas, para crear una proteína de superficie llamada hemaglutinina (HA) que se encuentra en los virus de gripe y que actúa como antígeno característico que desencadena la respuesta del sistema inmune
- Este ADN para crear un antígeno de HA de virus de gripe luego es combinado con un baculovirus, un virus que infecta a invertebrados.
- Esto da como resultado un virus "recombinante". La función de los baculovirus es ayudar a transmitir las instrucciones de ADN para convertir el antígeno de la HA del virus de la gripe en una célula hospedadora.
- Una vez que el virus recombinante ingresa a la línea de células hospedadoras cualificadas de la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA), le indica a las células que reproduzcan rápidamente el antígeno de la HA.
- Este antígeno es reproducido a granel, recolectado y purificado
- Este proceso de producción es el más rápido porque no se ve limitado por la selección de virus de la vacuna que se adaptan para cultivarse en huevos ni por el desarrollo de virus de la vacuna a base de células.



Classical to new vaccines



New vaccines

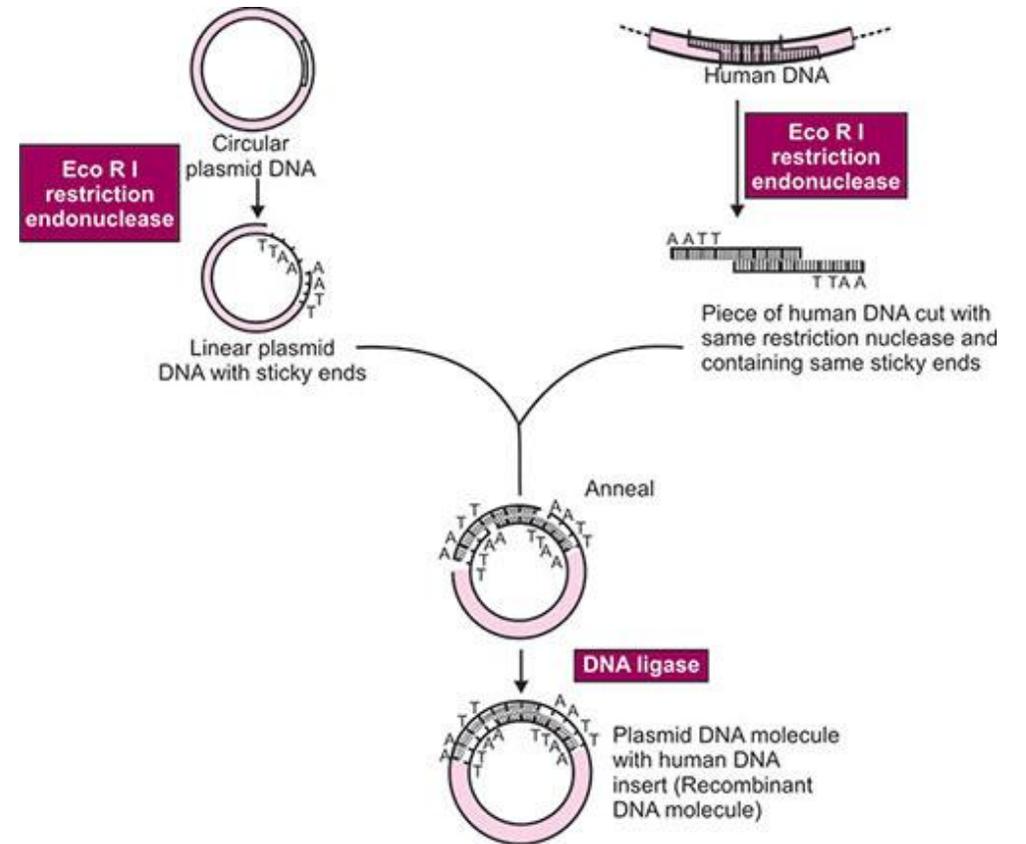
- Desde hace menos de un década la evolución de las tecnologías genéticas ha conducido a la formulación de un paradigma en la investigación de vacunas en el que los microorganismos se analizan *a priori* desde el punto de vista de las características de su genoma y/o su proteoma
- La vacunación con material genético se ha convertido en el campo de más rápido crecimiento en la tecnología de vacunas después de los informes a principios de los años 90 de que el ADN plasmídico induce una respuesta inmune al antígeno codificado por el plásmido. Este nuevo método es sin duda uno de los descubrimientos más importantes en la historia de la vacunación.
- A diferencia de las vacunas que emplean bacterias o virus recombinantes, las vacunas genéticas consisten únicamente en ADN (como plásmidos) o ARN (como ARNm), que es absorbido por las células y traducido en proteína.
- De hecho, las vacunas de material genético pueden evitar muchos de los problemas asociados con las vacunas basadas en proteínas recombinantes, como los altos costos de producción, las dificultades de purificación, el plegamiento incorrecto del antígeno y la mala inducción de linfocitos T.
- El material genético también tiene claras ventajas sobre los virus recombinantes, que están plagados de problemas de inmunidad preexistente, riesgo de inserción-muta-génesis, pérdida de atenuación o propagación de una infección inadvertida.



New vaccines

Tecnología del ADN recombinante

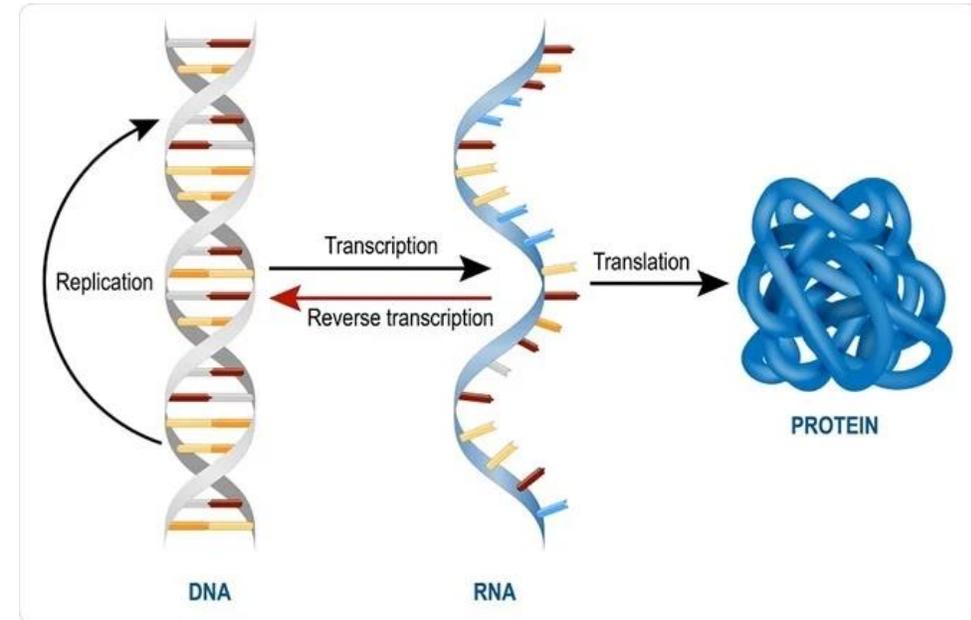
- La primera consiste en provocar mutaciones específicas o deleciones en el genoma viral, para lograr que los virus atenuados sean estables, esto es, incapaces de revertir al fenotipo de virulencia. La mayor estabilidad del fenotipo de atenuación se consigue induciendo modificaciones lo suficientemente amplias como para que la reversión pueda ser descartada, lo que puede ocurrir con los virus atenuados obtenidos por estrategias clásicas que pueden tener solamente mutaciones esporádicas y, por ello, tener la capacidad de revertir.
- La segunda aproximación ha sido la fabricación de virus que sirvan como portadores (o vectores de expresión) de inmunógenos o epitopos peptídicos de otros patógenos humanos
- como parte de un virus vivo, dicho inmunógeno es expresado dentro del citoplasma de la célula infectada, y como consecuencia de los mecanismos de presentación antigénica, se rompe en fragmentos que son transportados a la superficie de la célula, donde provoca la respuesta de los linfocitos T citotóxicos.
- Virus de la vacuna recombinante que expresa el inmunógeno. Actualmente se están desarrollando vectores de expresión con cepas de adenovirus
- Dada la mayor complejidad de los genomas bacterianos respecto a los genomas virales, la ingeniería genética de las bacterias se ha desarrollado más lentamente



New vaccines

ARN mensajero:

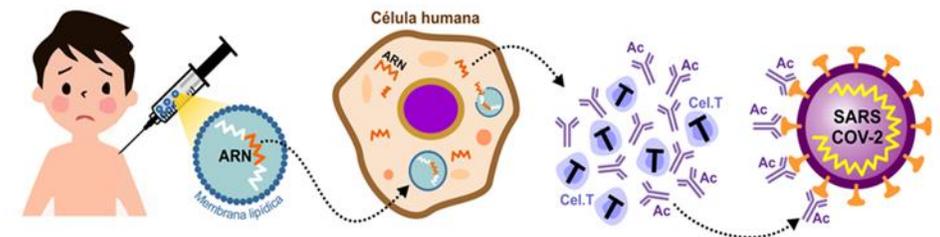
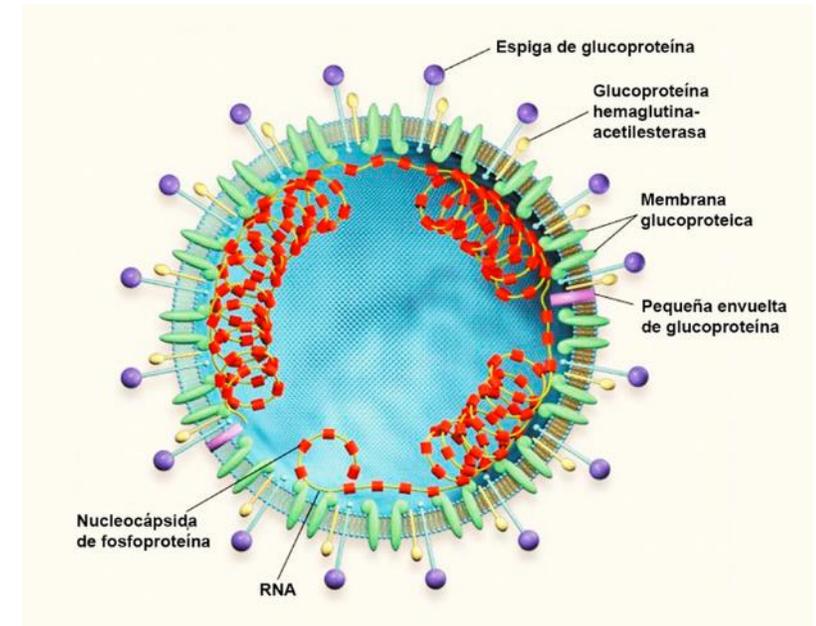
- Las vacunas de ARN utilizan un enfoque diferente que aprovecha el proceso que usan las células para producir proteínas.
- Las células usan el ADN como plantilla para producir moléculas de ARN mensajero (ARNm), que luego se traducen para construir proteínas. Una vacuna de ARN consta de una cadena de ARNm que codifica un antígeno específico de una enfermedad.
- Una vez que la cadena de ARNm de la vacuna está dentro de las células del cuerpo, las células usan la información genética para producir el antígeno. Este antígeno luego se muestra en la superficie celular, donde es reconocido por el sistema inmunológico desencadenando la respuesta inmune.



New vaccines

ARN mensajero:

- Se han desarrollado y puesto a punto este tipo de vacuna inédito que utiliza un fragmento pequeño del ARN mensajero del virus (ARNm) para convertir las células de un paciente en fábricas que producen una proteína del coronavirus, concretamente la que forma las espigas con las que el virus penetra en nuestras células
- La secuencia de ARNm vírico es suficiente para que nuestro sistema inmunológico aprenda a reconocerla y sea capaz de desatar una respuesta inmune para combatir futuras infecciones.
- Al detectar la secuencia de la proteína espiculada, nuestro sistema inmunológico produce anticuerpos y estimula los linfocitos
- Pero el ARN es una molécula bajo tremendamente inestable , pudiendo ser constantemente destruida por la presencia ubicua de la amenaza constante de ribonucleasas (ARNasas), enzimas que catalizan la hidrólisis del ARN fragmentando su cadena y descomponiéndolo .
- Estas ribonucleasas son las defensas primarias contra los agentes infecciosos que utilizan ARN como información genética y por eso son tan comunes que pueden estar en cualquier parte a nuestro alrededor y es por ello que ARN no es estable en un ambiente desprotegido.
- El mecanismo de protección que se usa en biotecnología es el inhibidor de la ribonucleasa y para evitar cualquier daño, hay que envolver el ARNm en una capa protectora y almacenarlo a bajas temperaturas para minimizar la cinética química
- El reto de vacunas termoestables es el siguiente paso.



COVID-19 vaccines

Tipos de vacuna	Pre-clínica	Fase I	Fase I/II	Fase II	Fase III*	En uso
ARN	29	2	1	1	3	2
ADN	18	2	4	-	2	-
Vector viral no replicante	25	6	-	-	4	3
Vector viral replicante	19	2	2	1	-	-
Virus inactivado	10	1	1	1	6	4
Virus vivo atenuado	3	1	-	-	-	-
Subunidad proteica	67	3	11	3	4	1
Partícula similar a virus	18	-	1	-	1	-
Otro/desconocido	33	2	4	-	-	-

Leading vaccines

Developer	How It Works	Phase	Status
 Pfizer-BioNTech	mRNA	2 3	Approved in several countries. Emergency use in U.S., E.U., other countries.
 Moderna	mRNA	3	Approved in Switzerland. Emergency use in U.S., U.K., E.U., others.
 Gamaleya	Ad26, Ad5	3	Early use in Russia. Emergency use in other countries.
 Oxford-AstraZeneca	ChAdOx1	2 3	Emergency use in U.K., E.U., other countries.
 CanSino	Ad5	3	Approved in China. Emergency use in other countries.
 Johnson & Johnson	Ad26	3	Emergency use in U.S., Bahrain.
 Vector Institute	Protein	3	Early use in Russia.
 Novavax	Protein	3	
 Sinopharm	Inactivated	3	Approved in China, U.A.E., Bahrain. Emergency use in Egypt, other countries.
 Sinovac	Inactivated	3	Approved in China. Emergency use in Brazil, other countries.
 Sinopharm-Wuhan	Inactivated	3	Limited use in China, U.A.E.
 Bharat Biotech	Inactivated	3	Emergency use in India.

Challenges of vaccine production

- Retos clásicos:
 - Producción estacional (12-16 semanas)
 - Cadena de frío 2-8°C
- Nuevos retos:
 - Compatibilidad materiales primarios
 - Cadena de frío ultracongelación -70°C,-20°C...
 - Nuevos requerimientos analíticos.



Retos material primario : Vidrio

- El vidrio es el material de envasado por excelencia en la industria farmacéutica incluyendo ampollas, viales y jeringas
- Según FEVE, la Federación Europea de Vidrio para Envases, la producción de vidrio para envases entre los miembros de FEVE creció 217 mil toneladas con respecto a los niveles de 2018 y alcanzó las 21,755 mil toneladas y 78.662 millones de unidades.
- Pero el tipo de vidrio necesario para envasar vacunas de forma segura constituye solo el 10% de todo el vidrio que producen las empresas. Es más caro y requiere equipo especializado para fabricarlo.
- Hablamos de vidrio farmacéutico es el vidrio de tipo I : vidrio de borosilicato , reconocido por su estabilidad química y resistencia al choque térmico
- A día de hoy el mercado está copado por tres actores de mercado Corning Pharmaceutical Glass, Schott AG y Nipro Pharmaceutical Packaging, que representan más de 1/3 de la cuota de mercado global
- Pero la estricta regulación actual respecto a la inspección de partículas añade otras limitación adicional :Además En el vidrio de borosilicato, a veces, a altas temperaturas parte del boro puede desprenderse del vidrio y reubicarse en algún otro lugar del vial, creando eventualmente partículas de vidrio microscópicas que se desprenden.
- Por tanto en ellos persiste el riesgo de leachables & extractables V (interacciones vidrio-medicamento)
- Todos los tipos de vidrio tienen el potencial de lixiviar sustituyentes alcalinos en el producto.
- En general, se dan niveles relativamente bajos de lixiviables a pH 4-8; Niveles relativamente altos de lixiviables a pH > 9
- Los principales extraíbles son silicio, sodio y boro mientras en menor media se pueden encontrar potasio, bario, calcio y aluminio, según la formulación de vidrio específica; •
- Las trazas extraíbles incluyen hierro, magnesio y zinc. El vidrio tratado da menos extraíbles si pH <8, aunque siempre existe la posibilidad de tener lixiviables de sulfato.



Retos material primario : Vidrio

- Adicionalmente, muchos productos biotech o nuevas vacunas comentadas requieren ultrabajas temperaturas de conservación .
- Por lo tanto hay iniciativas que tratan de resolverlo, pero que requieren mayor desarrollo de capacidad:
 - Fórmulas específicas con una composición específica de aluminosilicatos que a minimiza la reactividad a cualquier temperatura
 - Un nuevo material híbrido para vacunas y productos biotecnológicos combinando lo mejor del plástico y del vidrio . Los viales de poliolefinas cíclicas recubiertas interiormente con una nanocapa de vidrio.
 - Esta tecnología permite el estricto control dimensional inherente al proceso de moldeo del polímero de olefina cíclica. Las dimensiones de los viales de polímero de olefina cíclica se pueden controlar con tolerancias extremadamente estrictas que son de diez a cien veces más bajas que las que se pueden utilizar en viales de vidrio de tubo.
 - Mejorar la precisión dimensional ayuda a asegurar la el acoplamiento vial7tapón y por tanto la estanqueidad y esterilidad requerida.
 - Además el coeficiente térmico de expansión del polímero de olefina cíclica es menor que el de los materiales de tapón de caucho elastomérico y se equipara más estrechamente en comparación con el vidrio de borosilicato. Esto significa que la cantidad de contracción a temperaturas frías o criogénicas será más parecida al tapón de goma que al vidrio y, por lo tanto, reducirá el riesgo de separación que podría provocar la falla del CCI
 - El espesor total del sistema de revestimiento de barrera (vidrio) es menos de media micra y se ha demostrado que el riesgo de que el sistema de revestimiento de barrera se desprenda de la pared del vial en condiciones de almacenamiento criogénico es robusto hasta -196°C .



Retos material primario: Vidrio

- El aceite de silicona en los PFS barrels y en plunger rods crean igualmente los mismos para los productos inmunológicos y biotecnológicos a envasar.
- Por un lado el aceite de silicona libre estará presente en la solución del fármaco como gotitas esféricas y se identificará como partículas en el proceso de AVI (Automatic Visual Inspection)
- Por otro, los productos biológicos de origen protéico y los adyuvantes pueden interactuar con la silicona y esto puede resultar en la formación de agregados dependiendo en gran medida de la proteína, el pH y el entorno de la solución



Retos material primario: Vidrio

- Como en el caso de viales , hay iniciativas para resolver estos problemas , pero que sin duda estresan la cadena de suministro:
- **Jeringas de vidrio con baja siliconización :**
 - Reducen drásticamente el nº de partículas sub-visibles de silicona permaneciendo la inactivación de la superficie del vidrio (interacción vidrio/vacuna)
 - Mantienen la lubricación a largo plazo asegurando una correcta gliding force
- **Jeringas de CoC y CoP (polímeros de olefinas ciclicas)**
 - Componentes puros, con el más bajo nivel de extraíbles y lixiviables sin liberación de iones o metales pesados
 - Métodos de esterilización que permiten un bajo perfil de extraíbles y lixiviables
 - Niveles mínimos de impurezas y partículas no visibles al no requerir siliconización
 - Fácil integración en líneas de llenado existentes en nido



Retos material primario: Tapones

- En el caso de los stoppers hay varios riesgos de interacción con nuestras vacunas y products biotecnológicos :
 - Adsorción del ingrediente activo en la superficie del caucho. Las proteínas se adsorben especialmente en las superficies de caucho.
 - Absorción de uno o más componentes de la formulación en el caucho.
 - Permeabilidad de un componente de la formulación a través del caucho. Los conservantes fenólicos son un ejemplo bien conocido: la lixiviación de componentes de caucho en el medicamento. El conocido ejemplo de 2-mercaptobenzotiazol; también el aluminio, las nitrosaminas y el zinc son lixivados de caucho comunes.



Retos material primario: Tapones

- Además existe un problema similar al generado por la necesidad de siliconizar el cuerpo de las jeringas:
 - La sobreiliconización proporciona un exceso de silicona que puede reaccionar de manera adversa con un componente del producto que es sensible a las interacciones hidrófobas, como es el caso de muchas biomoléculas, provocando precipitación y / o agregados, contaje alto de partículas, burbujas que cuestan de disipar...
 - La sub-siliconización puede resultar en problemas con el equipo de llenado de alta velocidad , una mayor tendencia a que los cierres de goma se peguen entre sí o incluso un problema en el deslizamiento y por tanto influencia en la gliding force
 - La falta de siliconización puede resultar en un problema de breaking force cuando el émbolo y la goma resisten el movimiento a lo largo de la jeringa. 3. El exceso de silicona en la goma migrará al producto, lo que provocará aumentos potenciales en el recuento de partículas, ya que los contadores de partículas electrónicos detectan las gotas de silicona como partículas y un aumento potencial en la formación de burbujas de aire que no se disipan fácilmente.
 - La silicona es muy difícil de eliminar en el área de fabricación, por lo que la limpieza se convierte en un problema donde existen problemas



Retos materiales primarios : Tapones

- Hoy día existen tapones laminados que contiene una capa de película de copolímero de tetrafluoroetileno (EFTE) y etileno que protege el medicamento de la formulación de caucho (bromo o clorobutilo). Estos tapones recubiertos ofrecen las siguientes ventajas en comparación con los tapones que deben ser siliconados:
 - Elimina la necesidad de agregar aceite de silicona;
 - Proporciona lubricidad para la maquinabilidad
 - Reduce los problemas de aglutinación del tapón de goma
 - Disminuye los niveles de partículas
 - Reduce el potencial de adsorción y absorción de la formulación y por tanto los niveles de sustancias químicas extraíbles



Retos de la cadena de frío

- Las vacunas convencionales requieren mantener la cadena e frío a 2-8°C , que es la temperatura de una nevera convencional
- Los nuevos productos biotecnológicos y las nuevas vacunas, por su inestabilidad implican grandes retos en la cadena de frío
- Son necesarios arcones congeladores y armarios ultrafreezer para soportar temperaturas tan extremas, que además deben ser soluciones medioambientalmente sostenibles, que utilizan refrigerantes naturales de muy bajo efecto invernadero, como el R170 y el R1150, eliminando por completo el empleo de gases fluorados
- Pero además hay que crear una infraestructura logística de transporte y almacenamiento



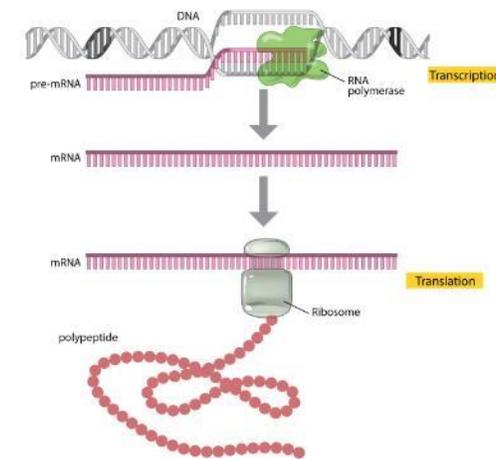
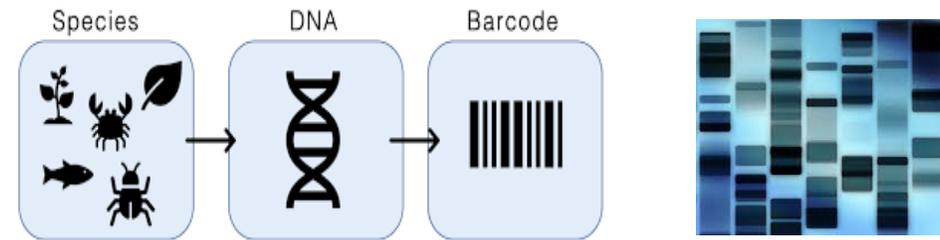
Retos de la cadena de frío

- Pero además hay que crear una infraestructura logística de transporte y almacenamiento.
- En el caso de la actual pandemia, si se han de distribuir 10.000 millones de dosis, se estima que se requieran 15 MM de entregas refrigeradas o 15.000 vuelos
- 4 factores críticos para la logística de la vacuna
 1. **Infraestructura logística:** Las vacunas en cadena fría requieren de expertos en logística especializados en este sector, y suficientes transportes en condiciones óptimas para asegurar la entrega en las mejores condiciones de calidad.
 2. **Seguridad del transporte:** Lograr entregas expeditas sin incidentes (robos en aumento).
 3. **Seguridad de producto:** Para asegurar que todas las vacunas se entreguen a quienes las deben recibir, el producto debe cumplir con un proceso de trazabilidad, cada pieza de cada lote con un código de serialización y un sistema de identificación a prueba de falsificaciones (tintas, sellos, etiquetas).
 4. **Sistema de control de producto:** Con el código de serialización, se debe hacer un registro metódico de los números de lote, cajas y piezas, además de un control exacto de cajas por destino. El centro de distribución debe seguir un control de inventarios FEFO (*first expired, first out*, primeras expiradas, primeras salidas) en los embarques.



Retos analíticos: protein transcription / identity Sanger

- Los nuevos productos biotecnológicos y las nuevas vacunas, requieren igualmente de nuevos y sofisticados métodos analíticos:
- Secuenciación del ADN mediante método Sanger:
 - Amplificación por PCR de los fragmentos de ADN en un termociclador, añadiendo dNTPs marcados con fluoróforos al mix estándar.
 - Purificación para eliminar los componentes del mix de PCR, dejando nuestro ADN amplificado puro. Puede ser llevado a cabo por kits de purificación comerciales.
 - Electroforesis capilar
 - Los fragmentos de ADN se analizan por electroforesis capilar y los picos de fluorescencia correspondientes a cada nucleótido, llegarán a un detector en tiempo real, cuyos datos se pueden transformar informáticamente en un cromatograma que nos dará los datos de la secuencia de nuestra muestra de ADN.
- Transcripción proteica:



Rapid sterility test

- Las campañas estacionales de vacunas o las situaciones e pandemia, exigen que los tiempos de liberación sean lo más reducidos posible.
- Los análisis microbiológicos estándar de esterilidad requieren un mínimo de 15 días de incubación , con lo que se superan las dos semanas desde el envasado hasta la posible puesta en el mercado
- Para evitar esto se imponen cada vez más test de esterilidad rápida como métodos alternativos:
 - Permiten una lectura cuantitativa CFU en 5 días
 - La muestras se filtras a través de filtros preesterilizados
 - Se incuba en cassettes esècficios durante 5 días
 - Se liberan y se colocan en un device específico donde la membrana se espraya con los reactivos
 - Finalmente se leen las CFU's en un equipo con detector de luminiscencia



Bibliografía

- Classic vaccinology and advances in vaccine design
 - María Teresa Criado[†], Sandra Sánchez, Carlos M. Ferreirós
- Departamento de Microbiología y Parasitología. Facultad de Farmacia. Universidad de Santiago de Compostela. Santiago de Compostela. España

Autores

Manuel Peinado Lorca

Catedrático de Universidad. Departamento de Ciencias de la Vida e Investigador del Instituto Franklin de Estudios Norteamericanos, Universidad de Alcalá

José Miguel Sanz Anquela

Profesor Asociado en Ciencias de la Salud. Departamento de Medicina y Especialidades Médicas, Universidad de Alcalá

Luis Monje

Biólogo. Profesor de fotografía científica, Universidad de Alcalá

Bibliografia

- [Vaccine. 1999 Dec 10; 18\(9-10\): 765–777.](#)
- **DNA and RNA-based vaccines: principles, progress and prospects**
- [Wolfgang W. Leitner](#), [Han Ying](#), and [Nicholas P. Restifo](#)*
- **On the mechanisms of conjugate vaccines**
[View ORCID Profile](#)Rino Rappuoli, Ennio De Gregorio, and Paolo Costantino
- Egg-Independent Influenza Vaccines and Vaccine Candidates article Jul 2017Ilaria Manini Claudia Maria Trombetta Giacomo Lazzeri[...]Emanuele Montomoli