

Comentarios sobre la producción de vacunas

Carlos Rolz

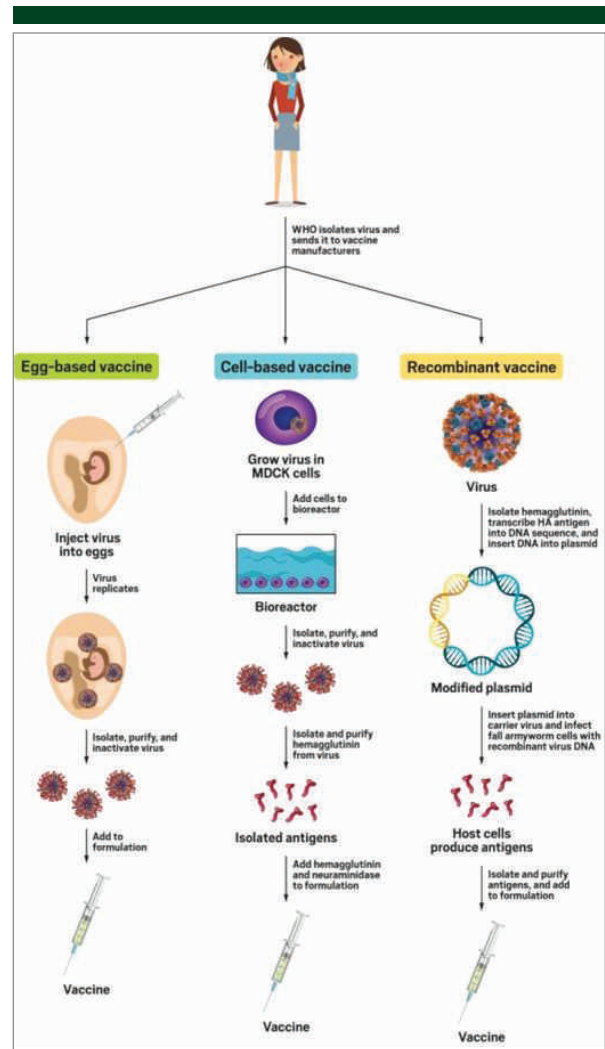
Centro de Ingeniería Bioquímica, Instituto de Investigaciones
 carlosrolz@uvg.edu.gt

Vacunas convencionales

El desarrollo de las vacunas convencionales, las cuales emplean como antígeno al patógeno muerto o al patógeno atenuado, toma un tiempo de 8 a 14 años y el costo de su desarrollo está entre US\$ 550 a 1,000 millones, siendo los ensayos clínicos de fase II y III por lo general, las etapas más costosas (Waye et al. 2013; Pronker et al. 2013; Plotkin et al. 2017; Gouglas et al. 2018) Las estimaciones anteriores deben tomarse con cautela debido a los diferentes procedimientos empleados en su cálculo, pero, por otro lado permiten una base comparativa que involucra una idea de la incertidumbre inherente a dicho desarrollo. Sin embargo, los productos exitosos generan suficientes ganancias debido a la demanda periódica del producto por parte de la población en riesgo.

Diferentes plataformas de producción

Desde hace varios años se han desarrollado otras plataformas de producción. Por ejemplo, en el caso de la vacuna para la influenza, existen a la fecha tres procesos de producción distintos como se resume en la gráfica 1. En la izquierda está el proceso de producción tradicional empleando huevos como medio para reproducir el virus. En el centro, se describe la secuencia de reproducción viral en células Mardin-Darby de riñón canino (MDCK), dentro de un bio-reactor. El virus se purifica, por ejemplo, usando micro-filtración, se inactiva químicamente y luego se destruye, con el objeto de recuperar y purificar los antígenos de la superficie, o sea las dos proteínas principales, la hemaglutinina (H) y la neuroaminidasa (N) La purificación se



Gráfica 1. Procesos industriales de la producción de la vacuna para prevenir la influenza
 Fuente: Boerner, L.K. Chemical Engineering News 98 (1) January 5, 2020

Cuadro 1. Empresas que han desarrollado vacunas ARNm (* Fase III, ** Fase II, *** Fases I y II, **** Fase I) (# Pre-clínico)

Arcturus/Duke-NUS ***
BioNTech, Pfizer, Fosun Pharma *
CureVac **
eTheRNA Immunotherapies
Imperial College London ****
Moderna, National Institutes of Health *
People's Liberation Army (PLA) Academy of Military Sciences/Walvax Biotech ****
Translate Bio, Sanofi Pasteur #
University of Pennsylvania, Duke Human Vaccine Institute #
Infectious Disease Research Institute/ Amryis, Inc. #
Max-Planck-Institute of Colloids and Interfaces #
Gennova #
Selcuk University #
CanSino Biologics/Precision NanoSystems #
Fudan University/ Shanghai JiaoTong University/RNACure Biopharma #

Fuente: WHO-DRAFT landscape of COVID-19 candidate vaccines - 2 October 2020
<https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines>

logra combinando la ultrafiltración y las técnicas de cromatografía. Esta vacuna es producida por Sequirus y el producto comercial se denomina *Fucelvax*. Finalmente, a la derecha, el método del ADN recombinante, en el cual, los antígenos antes mencionados se transcriben a ADN, con el cual se construye un plásmido. Este se inserta en un baculovirus transportador, con el cual se infectan células de un insecto que se reproducen en un bio-reactor, los antígenos producidos se recuperan y se purifican, *Flublok* es el nombre comercial de la vacuna desarrollada por Sanofi. Los tres procesos anteriores parten de virus que distribuye anualmente a los productores la OMS, o entidades nacionales como el CDC. Debe resaltarse en estos procesos la importancia de las operaciones unitarias flujo abajo, de purificación del antígeno, ya que son ineludibles y esenciales para garantizar la pureza y seguridad del producto.

Tecnologías emergentes de producción de vacunas

Dentro de las plataformas emergentes de producción de vacunas esta la tecnología del ácido ribonucleico mensajero (ARNm) (Amanat y Kramer, 2020; Rinaldi, 2020) Ante la emergencia que se ha suscitado por la pandemia viral actual, varias empresas - ver cuadro 1 - han empleado esta tecnología para producir una vacuna que tiene como blanco la proteína de la espiga superficial del virus SARS-CoV-2 (Wrapp et al. 2020) Se observa que dos de ellas están en fase III de desarrollo, varias en fases I y II, y un mayor número en fase pre-clínica. Existen otras

plataformas como las basadas en el ADN, las de sub-partículas proteicas y las de vectores virales que no se replican. Sin embargo, las vacunas ARNm muestran varias ventajas sobre sistemas alternos: a) producción más rápida, b) alta productividad por unidad de tiempo y de volumen, y c) flexibilidad en acoplarse a variantes de la vacuna sin necesidad de una revalidación de la plataforma (Kis et al. 2020)

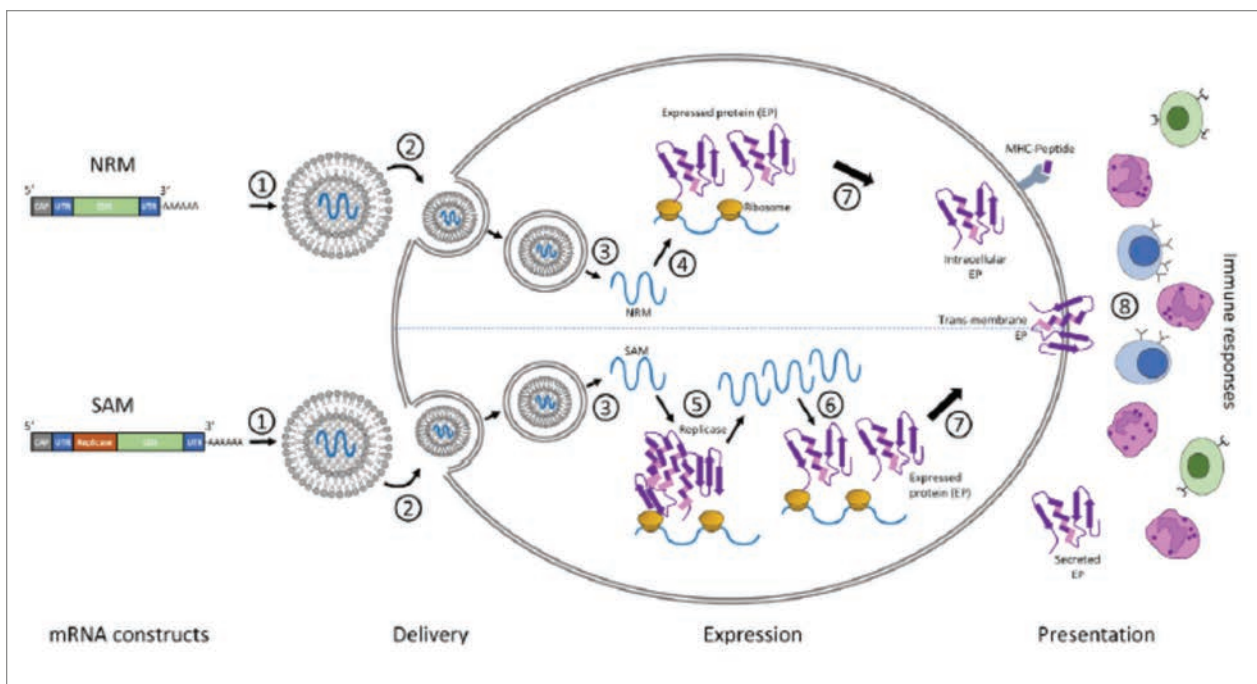
Tipos de vacunas empleando el ARNm

Existen dos tipos, en uno de ellos el ARNm no puede replicarse (NRM), y en el otro si puede replicarse (SAM). En estas últimas el ARNm puede replicarse dentro de las células humanas, ya que se ha incluido en la construcción genética la maquinaria que se lo permite. De esta manera, menores cantidades de ARNm son necesarias por dosis de vacuna (Vogel et al. 2018)

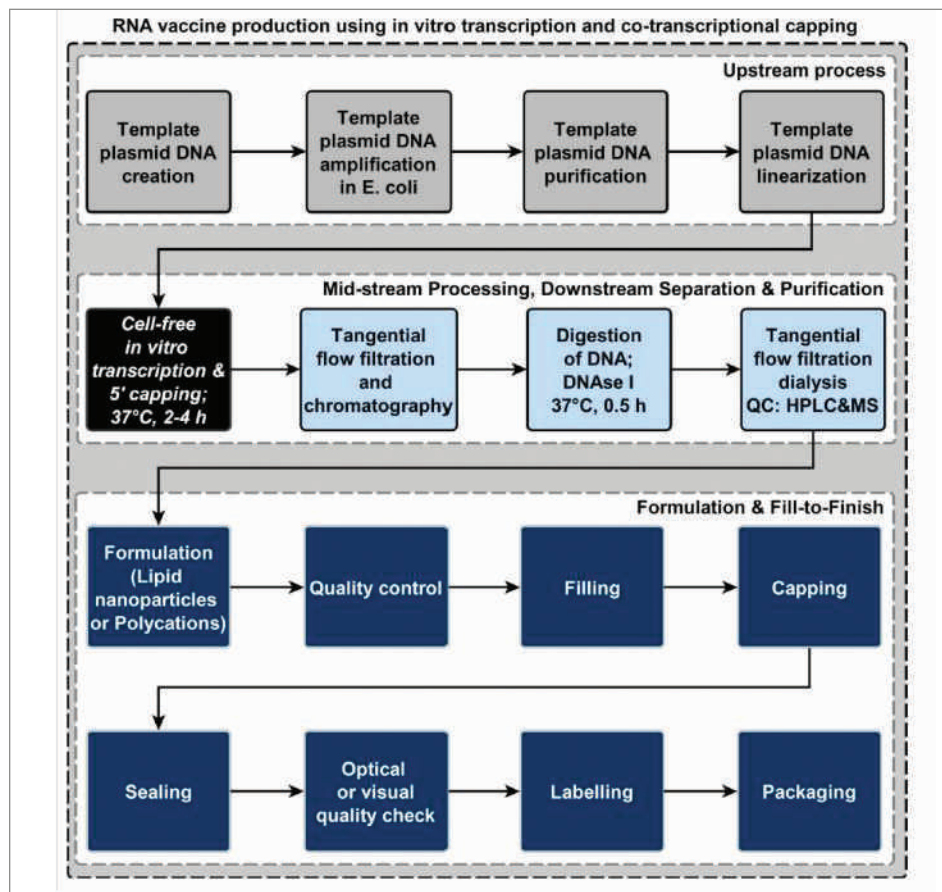
La gráfica 2 ilustra el proceso de vacunación y el mecanismo celular correspondiente. La construcción genética se encapsula en nano partículas lípidas para protegerlas de una degradación y promover la inserción dentro de la célula - 1 y 2 en la gráfica -. El ARNm se desprende de la nano partícula y entra al citosol de la célula - 3 -. La construcción genética NRM es traducida inmediatamente por los ribosomas a la proteína de interés - 4 -. Los ribosomas traducen la maquinaria que permite replicarse al ARNm de la construcción genética SAM -5-. Las copias amplificadas de ARNm se traducen en los ribosomas en la proteína de interés - 4 -. La proteína de interés sufre una transformación que permite su traslado intracelular - 7 -. La proteína de interés se expulsa al medio a través de las membranas como una proteína intracelular, la cual provoca una reacción del sistema inmunológico que la detecta y subsecuentemente produce anticuerpos - 8 -.

Producción industrial de vacunas empleando el ARNm

Kis et al. (2020) describen un proceso para la producción de vacunas del ARNm. El diagrama de bloques del mismo se ilustra en la gráfica 3. En la parte del proceso *flujo arriba* se genera la plantilla de ADN, luego se amplifica, se purifica y se efectúa la linealización. En la parte *central* del proceso se genera el ARNm por medio de la reacción de transcripción *in vitro*. En las operaciones *flujo abajo* el ARNm se purifica por medio de una secuencia de filtración en flujo tangencial (TFF) en combinación con operaciones unitarias de cromatografía. El ARNm y la plantilla del ADN las retiene el filtro. Los componentes de bajo peso molecular, incluyendo la enzima 17 ARN polimerasa pasan el filtro. Luego se elimina la plantilla de ADN por medio de una digestión con nucleasas. Los nucleótidos producidos se eliminan empleando de nuevo TFF. Esta secuencia de purificación logra unos rendimientos de ARNm de un 95% y una pureza de 99.9%. El ARN producido y purificado se formula en nano partículas lípidas (LNPs) Luego el producto pasa el control de calidad y se envasa en viales. Se tapan y sellan los viales; finalmente,



Gráfica 2. Proceso de vacunación y mecanismo celular Fuente: Rinaldi (2020)



Gráfica 3. Proceso de producción de vacunas ARNm Fuente: Kis et al. (2020)

empleando sistemas de procesamiento de imágenes automatizadas los viales se etiquetan y se empaquetan en envases secundarios y terciarios. El proceso es independiente de la secuencia de ARNm especificada, de manera que la plataforma de producción puede emplearse para producir un espectro amplio de vacunas (Kis et al. 2019)

Diseño de plataformas y costos

Kis et al. (2020) elaboraron un modelo de la plataforma y estimaron costos. En resumen, el proceso puede producir 1 billón de dosis al año, en una planta pequeña utilizando un bio-reactor de 5 L. El costo fijo del equipo, construcción de la plataforma y arranque de la producción es de US\$ 20 millones. Los costos de operación anuales se estiman en US\$ 100 millones, debido, principalmente al alto costo de las materias primas requeridas para la síntesis del ARNm y de las LNPs. En esta cifra se incluyen los costos de materias primas y compuestos químicos, de los requisitos auxiliares de la línea de producción, y los costos del control y aseguramiento de la calidad. El costo de producción de una dosis de vacuna SAM estaría entre 0.1 a 0.6 US\$, con una concentración de ARNm de 0.1-10 mg por dosis. Para las vacunas NRM el costo estaría arriba de US\$ 1.0 por dosis.

El costo final de venta, debería incluir, además de los costos de manufactura anteriormente mencionados, los costos de investigación y desarrollo, los costos de los ensayos clínicos, los costos de mercadeo y suministro - transporte y almacenamiento - y un margen de ganancia.

Retos

Existen muchos retos. El primero es que debe demostrarse que la vacuna es segura y eficaz. Segundo, deben resolverse algunos problemas de propiedad intelectual, entre ellos el uso y preparación de las LNPs. Tercero, disponibilidad de materias primas a la escala que demanda una pandemia mundial. Cuarto, estabilidad de las vacunas que garantice un transporte y distribución. Resulta que las vacunas ARNm deben mantenerse a una temperatura ultra-baja, alrededor de -75 a -80 °C. Por el momento no existe un sistema de transporte y de almacenamiento de esas condiciones para los requisitos de una pandemia mundial. Para paliar este último reto, se está investigando el desarrollo de formulaciones más termo-estables y aun productos liofilizados.

De todas estas tecnologías innovadoras en la producción de vacunas, ¿cuáles serán las que al final probarán su efectividad?

Bibliografía

- Amanat, F., Krammer, F. (2020) SARS-CoV-2 Vaccines: Status Report *Immunity* 52: 583-589.
- Gouglas, D., Le, T.T., Henderson, K., Kaloudis, A., Danielsen, T., Caspersen, N.H., Robinson, J.M. Heaton, P.M., Røttingen, J-A. (2018) *Estimating the cost of vaccine development against epidemic infectious diseases: a cost minimisation study* *Lancet Global Health* 6: e1386-96.
- Kis, Z., Shattock, R., Shah, N., Kontoravdi, C. (2019) *Emerging Technologies for Low-Cost, Rapid Vaccine Manufacture* *Biotechnology Journal* 14: 1800376.
- Kis, Z., Kontoravdi, C., Dey, A.K., Shattock, R., Shah, N. (2020) *Rapid development and deployment of high-volume vaccines for pandemic response* *Journal of Advanced Manufacturing and Processing*. 2: e10060.
- Plotkin, S., Robinson, J.M., Cunningham, G., Iqbal, R., Larsen, S. (2017) *The complexity and cost of vaccine manufacturing - An overview* *Vaccine* 35: 4064-4071.
- Pronker, E.S., Weenen, T.C., Commandeur, H., Claassen, E. H.J.H.M., Osterhau, A.D.M.E. (2013) *Risk in Vaccine Research and Development Quantified* *PLoS ONE* 8 (3): e57755.
- Rinaldi, A. (2020) *RNA to the rescue* *EMBO Reports* 21: e51013.
- Vogel, A.B., Lambert, L., Kinnear, E., Busse, D., Erbar, S., Reuter, K.C., Wicke, L., Perkovic, M., Beisert, T., Haas, H., Reece, S.T., Sahin, U., Tregoning, J.S. (2018) *Self-Amplifying RNA Vaccines Give Equivalent Protection against Influenza to mRNA Vaccines but at Much Lower Doses* *Molecular Therapy* 26 (2) 446-455.
- Waye, A., Jacobs, P., Schryvers, A.B. (2013) *Vaccine development costs: a review* *Expert Reviews Vaccines* 12 (12): 1495-1501.
- Wrapp, D., Wang, N., Corbett, K.S., Goldsmith, J.A., Hsieh, C-L., Abiona, O., Graham, B.S., McLellan, J.S. (2020) *Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation* *Science* 367: 1260-1263.