

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 606 545**

51 Int. Cl.:

A61K 39/00 (2006.01)

A61M 5/178 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.10.2011 PCT/EP2011/068090**

87 Fecha y número de publicación internacional: **26.04.2012 WO2012052394**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.10.2011 E 11772945 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.11.2016 EP 2629792**

54 Título: **Método de almacenar una vacuna que contiene un adyuvante de aluminio**

30 Prioridad:

18.03.2011 US 201161454248 P
18.10.2010 FR 1058464

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
24.03.2017

73 Titular/es:

SANOFI PASTEUR (100.0%)
2, avenue Pont Pasteur
69367 Lyon Cedex 07, FR

72 Inventor/es:

CHACORNAC, ISABELLE;
IKHELEF-GRIBI, NABILA;
RONZON, FRÉDÉRIC;
TIREFORT, JULIEN y
LENTSCH GRAF, SANDRINE

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 606 545 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Método de almacenar una vacuna que contiene un adyuvante de aluminio

5 La presente invención se refiere a un método para reducir y/o decelerar la desorción de un antígeno que ha sido adsorbido sobre un adyuvante de aluminio, así como al producto del mismo – a saber, la combinación de una composición de vacuna que comprende el antígeno adsorbido sobre el adyuvante de aluminio y un recipiente para la composición, teniendo dicho recipiente características particulares.

Es sabido de la técnica anterior, en particular del documento WO 02/05846, que las vacunas de combinación pueden presentar problemas debido a la agregación de disoluciones de vacuna individuales y a la adherencia de la vacuna a los frascos de almacenamiento de vidrio.

10 Un gran número de antígenos son capaces de adsorberse sobre un adyuvante de aluminio, en particular, a pH neutro o a un pH próximo a la neutralidad, que es el pH natural requerido para las composiciones que tienen que ser administradas a mamíferos, incluyendo seres humanos.

15 Con la condición de que la cantidad de adyuvante sea tal que el antígeno en realidad pueda adsorberse sobre el adyuvante en una cantidad óptima cuando los dos compuestos se mezclan entre sí, se consigue con mucha frecuencia el máximo grado de adsorción. Sin embargo, con el tiempo, dependiendo de las condiciones ambientales, el porcentaje de antígeno adsorbido (tasa de adsorción) puede disminuir, y esta desorción puede constituir un factor de inestabilidad.

20 Condiciones conocidas ambientales que pueden afectar al porcentaje de antígeno adsorbido (tasa de adsorción) incluyen, por ejemplo, variaciones en el pH (incluso ligeras variaciones) y la adición de uno o más componentes del medio o uno o más antígenos que pueden competir con el primer antígeno para los sitios de adsorción en el adyuvante.

25 Convencionalmente, una composición de vacuna de dosis múltiples, lista para usar, se carga en viales, por ejemplo, viales de vidrio cerrados con un tapón de plástico. De manera similar, una dosis única de una composición de vacuna se puede cargar en un vial mono-dosis o una jeringa lista para inyección que consiste, de una manera estándar, en un depósito que contiene la vacuna, un émbolo que cierra el depósito en su extremo distal y un dispositivo para la administración tal como una aguja fijada en su extremo proximal. De acuerdo con un modo de llenado estándar alternativo, la dosis de vacuna también se puede cargar en una jeringa sin aguja a la que el practicante añade una aguja envasada por separado en el momento de la inyección. El depósito de la jeringa está hecho generalmente de vidrio o de plástico y el émbolo o el tapón está hecho simplemente de plástico tal como un polímero de clorobutilo o bromobutilo, sin particular estratificación. Jeringas de vidrio o de plástico estándares se venden, por ejemplo, por Becton-Dickinson; Gerresheimer AG, Schott AG, Alemania; Nuova Ompi srl, Italia; y West Pharma/Daykio. Con el fin de facilitar el deslizamiento, el émbolo o tapón pueden haber sido sumergido en una emulsión de silicona en agua, de modo que se forma una película de silicona en su superficie. Émbolos/tapones estándares se venden por Helvoet, Stelmi y West Pharma, por ejemplo; algunos de ellos ya se venden recubiertos con una película de silicona (ref. B2 de West Pharma).

35 Cualquiera que sea el recipiente utilizado para el almacenamiento y el dispositivo que se utiliza para cerrar el recipiente, la administración en el momento de la inyección consiste en utilizar una jeringa y deslizar el émbolo o la combinación de tapón/émbolo de manera que se suministra la vacuna.

SUMARIO DE LA INVENCION

40 Los autores de la invención han encontrado ahora que el material del recipiente en sí, así como el del dispositivo para cerrar el recipiente puede afectar a la tasa de adsorción.

45 Han observado que una composición de vacuna que contiene el antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg) adyuvado con un adyuvante de aluminio y cargado como una dosis única en la jeringa estándar cerrado con un tapón estándar se sometió a diferentes tasas de adsorción cuando se almacena en condiciones idénticas y en el mismo periodo de tiempo (unos pocos días a varios meses), dependiendo de si la jeringa se almacenó en la posición vertical u horizontal. El mismo fenómeno también se ha visto con viales. La consecuencia práctica de las diferentes

posiciones de almacenamiento era que la vacuna contenida en los depósitos almacenados verticalmente no estaba en contacto con el tapón, mientras que existía contacto entre la composición y el tapón en los depósitos almacenados horizontalmente.

5 Después de un cierto período de tiempo, se midió el nivel de adsorción de HBsAg, y se observó que el nivel de adsorción era mucho más bajo para el HBsAg contenido en los depósitos almacenados horizontalmente. Esto indicó a los autores de la invención que el material del tapón estándar (polímero de clorobutilo o bromobutilo) era responsable de la disminución de adsorción.

10 La solución a este problema es prevenir el contacto entre la composición de vacuna con adyuvante y un tapón hecho de un material que contribuye en una adsorción disminuida o utilizar un tapón hecho de un material que no contribuya en la adsorción disminuida. En una realización, la invención comprende un método y un aparato que utiliza un tapón recubierto con una película de un polímero fluorado, tal como Teflon™ o una sustancia similar a Teflon™ (tal como Omniflex™ de Helvoet Pharma o Fluorotec™ de West Pharma), que disminuyen o eliminan la desorción provocada por el tapón.

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

15 En un aspecto, la invención comprende un primer método para reducir y/o ralentizar la desorción de un antígeno inicialmente adsorbido en un adyuvante de aluminio durante el almacenamiento, comprendiendo el método (i) cargar un recipiente con una composición de vacuna que contiene el antígeno inicialmente adsorbido sobre el adyuvante de aluminio; y (ii) cerrar el recipiente con un dispositivo que actúa como un tapón, estando la superficie del dispositivo susceptible de contactar con la composición revestida con un polímero fluorado.

20 En otras palabras, la invención se refiere a un primer método para el llenado y el almacenamiento de una composición que contiene el antígeno adsorbido sobre el adyuvante de aluminio, que comprende (i) llenar un recipiente con la composición de vacuna; y (ii) cerrar el recipiente con un dispositivo que actúa como un tapón, pudiendo la superficie del dispositivo contactar con la composición que se recubre con un polímero fluorado.

25 De una manera similar, la invención también se refiere al uso de un dispositivo que actúa como un tapón para cerrar un recipiente que contiene una composición de vacuna que comprende el antígeno adsorbido sobre un adyuvante de aluminio, estando la superficie del dispositivo susceptible de contactar con la composición recubierta con un polímero fluorado.

El recipiente puede ser, por ejemplo, un vial o el depósito de una jeringa. Esto también se aplica a todos los otros aspectos de la invención que se describe a continuación.

30 La invención se refiere al uso de un recipiente cerrado por un dispositivo que actúa como un tapón, en donde la superficie del dispositivo susceptible de contactar con la composición está recubierta con un polímero fluorado, para almacenar una composición de vacuna que comprende un antígeno de la Hepatitis B sobre un adyuvante de oxihidróxido de aluminio.

35 La composición de vacuna puede ser líquida o sólida, p. ej., liofilizada. Una composición liofilizada puede tener el aspecto de un polvo. En el momento de la inyección a un paciente, la composición liofilizada se reconstituye con una disolución farmacéutica apropiada. Esto también se aplica a todos los otros aspectos de la invención descrita más adelante.

40 De acuerdo con la práctica convencional en la técnica y para los fines de esta memoria, se entiende que "antígeno adsorbido" o "inicialmente adsorbido" no pretende dar a entender que el 100% de la cantidad de antígeno esté en realidad adsorbida. Estas expresiones significan simplemente que está adsorbida una cantidad sustancial de antígeno. Esto también se aplica a todos los otros aspectos de la invención descrita más adelante.

45 Como se ha mencionado anteriormente, el dispositivo puede ser un dispositivo de plástico hecho, por ejemplo, de un polímero de clorobutilo o bromobutilo. Este dispositivo estándar se trata con un polímero fluorado; en particular, puede ser sometido a un tratamiento de flujo laminar con un fluoropolímero, llevándose a cabo este tratamiento de flujo laminar en todo el dispositivo o, al menos, en la superficie del dispositivo susceptible de contacto con la composición. El tratamiento de flujo laminar hace que sea posible depositar una capa muy delgada (p. ej., película) del fluoropolímero. Como se apreciará, el área de la superficie revestida puede exceder a la superficie susceptible

de contacto con la composición. De hecho, en una realización, toda la superficie del dispositivo está recubierta con el polímero fluorado.

Para uso en la presente invención, el polímero fluorado puede ser, por ejemplo, politetrafluoroetileno (PTFE), politetrafluoropropileno (PFTP), etileno-propileno fluorado (FEP, un copolímero de hexafluoropropileno y tetrafluoroetileno), policlorotrifluoroetileno (PCTFE), copolímero de perfluoroalcoxi (PFA), poli(etileno-co-tetrafluoroetileno) (ETFE), poli(etilenoclorotrifluoroetileno) (ECTFE), poli(fluoruro de vinilo) (PVF) o poli(fluoruro de vinilideno) (PVPF).

El método/uso descrito en esta memoria hace que sea posible reducir la velocidad de desorción del antígeno adsorbido sobre el adyuvante de aluminio y/o el porcentaje de desorción (o tasa de desorción) después de un tiempo de almacenamiento definido a una temperatura dada. La tasa de desorción se puede expresar como sigue: (cantidad de antígeno no adsorbido) / (cantidad total de antígeno presente en la composición). Típicamente, la tasa de desorción se puede evaluar mediante la centrifugación de la composición de vacuna (muestras a T (tiempo) = 0 y al final del experimento); la recuperación de los sobrenadantes que contienen el antígeno desorbido; y luego la cuantificación de la fracción desorbida mediante el ensayo del antígeno en los sobrenadantes y en toda la vacuna utilizando un método adecuado elegido de acuerdo con la naturaleza del antígeno. El porcentaje de desorción (o velocidad de desorción) puede variar de un antígeno a otro de acuerdo con la fortaleza/debilidad de la interacción antígeno-adyuvante. Sin embargo, se considera que el porcentaje de desorción (o tasa de desorción) se puede reducir en un 10 a 15 ó 20% en comparación con un método de carga estándar utilizando tapones estándares - midiéndose dicha reducción 1 ó 2 meses después de la fecha de la carga. Durante este período de tiempo, el almacenamiento se lleva a cabo a una temperatura de + 5 a 25°C. Como puede apreciarse fácilmente, el porcentaje de adsorción (tasa de adsorción) puede deducirse fácilmente a partir del porcentaje de desorción (o tasa de desorción).

Cuando el dispositivo se utiliza no sólo para cerrar el recipiente, sino también para suministrar la composición contenida en el recipiente, tal como deslizando el émbolo de una jeringa, se recomienda siliconizar la superficie interior del recipiente.

Sin embargo, se ha observado que, en algunos casos, la silicona puede ser perjudicial para la adsorción. De hecho, la tasa de desorción observada en composiciones almacenadas en jeringas convencionalmente siliconadas por mero tratamiento de la superficie con una emulsión de silicona-en-agua puede ser mayor que la tasa de desorción observada en composiciones almacenadas en recipientes no siliconados. Los autores de la invención postulan que aunque la silicona se adhiere a la superficie interior del recipiente, se mantiene en forma libre y, después de sacudimiento o agitación, puede fluir fuera de la superficie interior y pasar al contenido del recipiente (la composición de vacuna).

Los autores de la invención han encontrado ahora que este último problema puede ser resuelto mediante el uso de un recipiente en el que las superficies internas están revestidas con silicona polimerizada. Un recipiente de este tipo se puede obtener por tratamiento de la superficie interior del recipiente con una emulsión de silicona en agua, seguido de calentamiento del recipiente, por ejemplo a una temperatura de 270 a 330°C durante 30 min. Tras el calentamiento, la silicona se polimeriza en la superficie interior del recipiente y, por lo tanto, ya no es capaz de mezclarse con la composición. La polimerización de la silicona hace que sea posible reducir la energía superficial de la silicona a la que la composición de vacuna puede ser sensible.

Adicionalmente, la operación de siliconización que comprende una etapa de polimerización (i) es más precisa y más homogénea que una simple operación de siliconización estándar; y (ii) hace que sea posible reducir la cantidad de silicona que se utiliza (es decir, cargada en la superficie interior del recipiente) por un factor de aproximadamente 10, sin ninguna pérdida de efecto lubricante. Por ejemplo, de acuerdo con un proceso de siliconización estándar, 400 a 1000 µg de silicona se depositan en una jeringa destinada a contener dosis de 0,5-1 ml (la superficie interior total del depósito de la jeringa de 0,5-1 ml es de aproximadamente 8 cm²; en este ejemplo esta superficie corresponde a una cantidad de silicona de aproximadamente 50 a 125 µg/cm²), mientras que de 40 a 100 g de silicona son suficientes para la misma jeringa (aproximadamente 5 a 12 µg/cm²) si la silicona se deposita sobre las superficies internas del recipiente y luego se polimerizan, por ejemplo mediante calentamiento. El hecho de que la superficie interior de la jeringa se recubra con una baja cantidad de silicona polimerizada de una manera más homogénea que con una baja cantidad de silicona libre permite que los émbolos no siliconados se deslicen suavemente, mientras que tales émbolos son inoperantes con jeringas recubiertas con una baja cantidad de silicona libre.

Esta es la razón por la que la invención también comprende un segundo método para reducir y/o ralentizar la desorción de un antígeno adsorbido sobre un adyuvante de aluminio, comprendiendo el método de llenado de un recipiente con una composición de vacuna que comprende el antígeno adsorbido sobre el adyuvante de aluminio, en el que la superficie interior del recipiente está recubierta con silicona polimerizada.

- 5 En otras palabras, la invención comprende también un segundo método para cargar y almacenar una composición de vacuna que contiene un antígeno adsorbido sobre el adyuvante de aluminio, comprendiendo el método llenar un recipiente con la composición en el que la superficie interior del recipiente está recubierta con silicona polimerizada.

10 De una manera similar, la invención también comprende el uso de un recipiente que tiene una superficie interior recubierta con silicona polimerizada para almacenar una composición de vacuna que comprende un antígeno adsorbido sobre un adyuvante de aluminio.

Ventajosamente, el recipiente que tiene superficies internas recubiertas con silicona polimerizada está hecho de plástico o de vidrio. Ventajosamente, el recipiente es el depósito de una jeringa.

La cantidad de silicona polimerizada recubierta en la superficie interior del recipiente es de 3 a 25 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$; ventajosamente de 5 a 20 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$; preferiblemente de 5 a 15 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$.

- 15 Como puede entenderse fácilmente, el recipiente utilizado en los primeros métodos de la invención puede recubrirse ventajosamente con silicona polimerizada tal como se describió arriba.

En otro aspecto, la invención comprende:

- 20 A - Un recipiente para almacenar y/o administrar una composición de vacuna, en donde el recipiente contiene una composición de vacuna que comprende un antígeno de la hepatitis B adsorbido sobre un adyuvante de oxihidróxido de aluminio y (iii) está cerrado por un dispositivo que actúa como un tapón, en donde la superficie del dispositivo contactable con la composición está recubierta con un polímero fluorado;

- 25 B - Un recipiente (i) que tiene superficies internas recubiertas con silicona polimerizada; (ii) que contiene una composición de vacuna que comprende un antígeno de la hepatitis B adsorbido sobre un adyuvante de oxihidróxido de aluminio; y que está cerrado por un dispositivo que actúa como un tapón, en donde la superficie del dispositivo contactable con la composición está recubierta con un fluoropolímero.

En otras palabras, la invención se refiere a una composición de vacuna que comprende un antígeno adsorbido sobre un adyuvante de aluminio, que está cargado y almacenado en un recipiente (i) que tiene la superficie interior recubierta con silicona polimerizada; y/o (ii) que está cerrado por un dispositivo que actúa como un tapón, en donde al menos la superficie del dispositivo contactable con la composición está recubierta con un polímero fluorado.

- 30 Las composiciones de vacuna almacenadas en recipientes de acuerdo con la invención incluyen:

- Una composición de vacuna que comprende un antígeno, en donde la cantidad de antígeno mínima requerida para el uso previsto (p. ej., como una dosis para la administración a un ser humano) se adsorbe sobre un adyuvante de aluminio;

35 - una composición de vacuna que comprende un antígeno adsorbido sobre un adyuvante de aluminio, en donde la composición de vacuna, cuando se carga en un recipiente para su uso en la presente invención, exhibe un porcentaje de adsorción de al menos:

(a) 65-70% de la cantidad total de antígeno presente en la composición, cuando, inmediatamente después de la carga, la composición se almacena a (i) $5 \pm 3^\circ\text{C}$ durante 2-3 años; o (ii) $25 \pm 3^\circ\text{C}$ durante 2-3 meses; o

40 (b) 80-90% de la cantidad total de antígeno presente en la composición, cuando, inmediatamente después de la carga, la composición se almacena a $5 \pm 3^\circ\text{C}$ durante 18 meses; y

- una composición de vacuna que comprende un adyuvante de aluminio y un antígeno capaz de adsorberse sobre el adyuvante de aluminio, en donde el porcentaje del antígeno adsorbido sobre el adyuvante de aluminio es al menos 5 ó 10% mayor que el porcentaje observado cuando la misma composición de vacuna está contenida en un recipiente estándar que tiene superficies interiores no recubiertas o superficies interiores recubiertas con silicona no polimerizada, llevándose a cabo la comparación entre los porcentajes de adsorción de antígeno después del almacenamiento de los recipientes que contienen la vacuna a 25°C durante 2 meses, a partir de la fecha de llenado de la recipientes.

Para los fines de la presente invención, el recipiente puede ser cualquier tipo de depósito tales como viales o jeringas, y puede contener múltiples dosis (recipiente multidosis) o una dosis única (recipiente de dosis única). Como un ejemplo, el recipiente puede ser una jeringa o una parte de una jeringa que comprende el depósito que contiene la vacuna cerrado por un dispositivo que actúa como un tapón y como un sistema para la liberación de la vacuna en el momento de administración (p. ej., utilizando un émbolo). El dispositivo que actúa como un tapón puede ser un émbolo.

Tapones y/o émbolos para uso en la presente invención se venden, por ejemplo, por Helvoet Pharma (tecnología Omniflex™) y por West Pharma (tecnología Fluorotec™). Depósitos de jeringa de vidrio revestidos con silicona polimerizada para su uso en la presente invención se venden, por ejemplo, por Nuova Ompi srl, Becton-Dickinson y Gerresheimer (tecnología cocida).

El antígeno y el adyuvante de aluminio pueden ser cualquier antígeno y cualquier adyuvante de aluminio siempre que, por supuesto, que ambos sean capaces de interactuar entre sí. Además, fácilmente se puede entender que la presente invención es de particular interés para un par de antígeno-adyuvante de aluminio que tiene una fuerza de interacción relativamente débil; dependiendo la fuerza de interacción, posiblemente, del entorno. Esta fuerza de interacción se puede evaluar de acuerdo con una diversidad de ensayos. Por ejemplo, un adyuvante de aluminio se puede utilizar para formar diversos pares de antígeno-adyuvante (el antígeno varía de un par al otro, el adyuvante se mantiene el mismo). A continuación, se añade una gran cantidad de un compuesto capaz de competir con el antígeno para la interacción con el adyuvante. Las diversas preparaciones se centrifugan y los sobrenadantes se recuperaron. Finalmente, la cantidad de antígeno desorbido se ensaya en los sobrenadantes y, como resultado, los antígenos se pueden comparar en cuanto a su fuerza de interacción con el adyuvante.

Una fuerza de interacción relativamente débil es una fuerza de interacción que conduce a una adsorción que puede verse afectada perjudicialmente por un llenado estándar con la composición que contiene el complejo antígeno-adyuvante de aluminio. Diversos elementos implicados en la fabricación de un recipiente tal como, por ejemplo látex, antioxidantes, silicona e iones de metales (p. ej., zinc y wolframio), pueden desestabilizar el complejo antígeno-adyuvante.

Por "adsorción" se entiende, en general, cualquier fenómeno destinado a la formación de un complejo antígeno-adyuvante que implica, entre otros, a las fuerzas de interacción electrostáticas, interacciones hidrofóbicas o intercambio de ligandos. Por lo tanto, el antígeno puede estar unido en la superficie de la red del adyuvante de aluminio o incrustado en el interior, después de la co-precipitación con el adyuvante de aluminio.

Para uso en la presente invención, un adyuvante de aluminio puede ser oxihidróxido de aluminio (AlOOH) tal como el producto vendido por Brenntag AG (Superfos) o Reheis Corp.; e hidroxifosfato de aluminio (AlOHPO₄), tal como el producto vendido por Alphos.

Para que una composición de vacuna sea eficaz, la cantidad mínima de antígeno necesaria para la adsorción en el adyuvante de aluminio depende esencialmente del propio antígeno, y es fácilmente determinable por los expertos normales en la técnica.

En una realización particular, el antígeno puede ser el antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg). Es particularmente ventajoso adsorber HBsAg sobre AlOOH, ya que HBsAg exhibe un punto isoeléctrico (IEP) de menos de 7 (aproximadamente 4 a 5) y AlOOH exhibe un punto de carga cero (PZC) mayor que 7 (aproximadamente 9 a 11).

La composición de vacuna para uso en la presente invención puede contener uno o más antígenos, estando al menos uno de ellos adsorbido sobre el adyuvante de aluminio y siendo posible que los otros sean o no adsorbidos.

De acuerdo con una realización, la composición para uso en la presente invención comprende HBsAg adsorbido sobre AIOOH (complejo AIOOH-HbsAg) y un segundo antígeno, que es fosfato de polirribosilribitol (PRP) de *Haemophilus influenzae* (HiB de valencia), preferiblemente en una forma conjugada con una proteína de soporte (C) que puede ser, entre otras, Dt o Tt.

- 5 De acuerdo con otra realización particular, cuando el antígeno adsorbido sobre el adyuvante de aluminio es HBsAg, la composición de vacuna puede contener también, como antígenos adicionales, uno o más de los siguientes: toxoide de la difteria (Dt) (valencia difteria); toxoide tétanos (Tt) (valencia tétanos); toxina destoxificada de *Bordetella pertussis* (Ptdx), fimbriae, hemaglutinina filamentosa (FHA) y/o pertactina (antígeno de 69 kD) (valencia *pertussis*); poliovirus inactivado serotipo 1, 2 ó 3 (valencia polio); y fosfato de polirribosilribitol (PRP) de *Haemophilus influenzae* (valencia HiB), preferiblemente en una forma conjugada con una proteína de soporte (C) que puede ser, entre otras, Dt o Tt.

Como una cuestión de ejemplo, la composición puede comprender HBsAg, Dt, Tt, Pt y FHA adsorbidos sobre AIOOH (el complejo AIOOH - HbsAg-Dt-Tt-Pt-FHA), la valencia polio y PRP-C sustancialmente no adsorbido sobre AIOOH.

- 15 De una manera general, la invención también es particularmente ventajosa cuando la composición de vacuna comprende varias valencias, por ejemplo 2, 3, 4, 5, 6 o más, cada una representada por uno o más antígenos (2, 3, 4 ó 5), estando varios antígenos adsorbidos sobre el adyuvante de aluminio. De hecho, en el modo de llenado estándar, cuanto mayor sea el número de antígenos/valencias adsorbidos sobre el adyuvante de aluminio, más crítico será el fenómeno de desestabilización por el recipiente. La fuerza de interacción antígeno-adyuvante difiere a menudo de un antígeno a otro y, en una composición que contiene varios antígenos, el antígeno con la fuerza de interacción más débil exhibe la más alta tendencia a desorber en condiciones adversas.

Ejemplos y resultados experimentales

- 25 **A** - Una gran parte de una composición de vacuna que contiene el antígeno de superficie de la hepatitis B, toxoide difteria, toxoide tétanos y valencia *pertussis*, cada uno de ellos adsorbido sobre oxihidróxido de aluminio, así como las valencias polio y *Haemophilus influenzae* B (HiB) no adsorbida se distribuyó en tres categorías de jeringas de dosis única, cuyas características eran como sigue:

- (1) jeringas de vidrio siliconizadas estándar con tapón/émbolo estándar de plástico no laminado;
- (2) jeringas de vidrio siliconizadas estándar con tapón/émbolo recubiertas de polímero fluorado (West Pharma; tecnología Fluorotech™); y
- 30 (3) jeringas, cuya superficie interior está revestida con silicona polimerizada (sistema de jeringa cocida Luercone™ de Gerresheimer) con tapón/émbolo recubiertas de polímero fluorado (West Pharma; tecnología Fluorotech™).

- 35 La mayor parte se distribuyó en dosis únicas de 0,5 mL, conteniendo cada una de las dosis 10 µg de HBsAg, 30 Lf de Dt, 10 Lf de Tt, 25 µg de Pt, 25 µg de FHA, 40 DU (Unidad de antígeno D) de IPV1, 8 DU de IPV2, 32 DU de IPV3, 12 µg de PRP (en forma conjugada PRP-Tt), 0,6 mg de Al, 55 mM de iones fosfato, 20 mM de iones carbonato y tampón Tris sacarosa, 2,5 mM, 2,125%, a pH 6,8-7,2.

Todas las jeringas de las tres categorías fueron almacenadas horizontalmente a 25°C durante dos meses (envejecimiento acelerado). La desorción de HBsAg se midió en cada una de las tres categorías a T = 0 (justo después de cargar las jeringas) y luego después de dos meses.

- 40 La desorción se evaluó centrifugando el contenido de las jeringas y luego midiendo la cantidad de HBsAg desorbido presente en el sobrenadante mediante ELISA (ELISA tipo sándwich, que implica un anticuerpo monoclonal anti-HBsAg de ratón (IgM) para el recubrimiento y la captura, un segundo anticuerpo monoclonal anti-HBsAg de ratón (IgG) y un tercer anticuerpo policlonal anti-IgG de ratón acoplado a peroxidasa (Sigma, Ref. A3673) que se revela mediante la adición de tetrametil-bencidina).

ES 2 606 545 T3

A T (tiempo) = 0, el nivel de adsorción de HbsAg era idéntico en las tres categorías (se adsorbió el 98% del total de HBsAg). A T = 2 meses se observó una desorción en todas las categorías, pero el porcentaje de desorción difería dependiendo de la categoría. El porcentaje de desorción más alto se encontró en la categoría (1) (a T = 1 y 2 meses, se adsorbió 55 y 50% del HBsAg total, respectivamente), mientras que el porcentaje más bajo se encontró en la categoría (3) (A T = 1 y 2 meses, se adsorbieron 72 y 69% del total de HBsAg, respectivamente).

5

B - Una gran parte de la composición de vacuna descrita en **A** - se distribuyó en dos categorías de una dosis única de jeringas de 1 mL, cuyas características eran las siguientes:

- (1) jeringas de vidrio siliconizadas estándares (silicona libre); y
- (2) jeringas no siliconizadas.

10 La mayor parte se distribuyó en dosis únicas de 0,5 mL, conteniendo cada una de las dosis 10 µg de HBsAg, 30 Lf de Dt, 10 Lf de Tt, 25 µg de Pt, 25 µg de FHA, 40 DU (Unidad de antígeno D) de IPV1, 8 DU de IPV2, 32 DU de IPV3, 12 µg de PRP (en forma conjugada PRP-Tt), 0,6 mg de Al, 55 mM de iones fosfato, 20 mM de iones carbonato y tampón Tris sacarosa, 2,5 mM, 2,125%, a pH 6,8-7,2.

15 Todas las jeringas de las dos categorías fueron almacenadas horizontalmente a 25°C durante dos meses (envejecimiento acelerado). La desorción de HBsAg se midió en cada una de las dos categorías a T = 0 (justo después de cargar las jeringas) y luego después de dos meses, tal como se describe en **A** - arriba.

20 A T (tiempo) = 0, el nivel de adsorción de HbsAg era idéntico en las dos categorías (se adsorbió el 98% del total de HBsAg). A T = 2 meses se observó una desorción en todas las categorías, pero el porcentaje de desorción difería dependiendo de la categoría. El porcentaje de desorción más alto se encontró en la categoría (1) (a T = 1 y 2 meses, se adsorbió 69 y 68% del HBsAg total, respectivamente), mientras que el porcentaje de desorción más bajo se encontró en la categoría (2) (A T = 1 y 2 meses, se adsorbió 73% del total de HBsAg). Esto indica claramente que la adsorción del antígeno sobre un adyuvante de aluminio es sensible a la silicona libre.

C - Una gran parte de la composición de la vacuna descrita en **A** - se distribuyó en tres tipos de jeringas de dosis única de 1 mL, cuyas características eran las siguientes:

- 25
- (1) jeringas de vidrio poco siliconizadas (50-100 µg de silicona libre/jeringa);
 - (2) jeringas de vidrio altamente siliconizadas estándares ((jeringa RTF Luercone™ de Gerresheimer): 800 µg a 1 mg de silicona libre/jeringa); y
 - (3) jeringas que tenían la superficie interior recubierta con silicona polimerizada (50-100 µg/jeringa).

30 Jeringas de la categoría (1) son operativas solamente si el émbolo utilizado para la inyección también está siliconizado, porque la cantidad de silicona que recubre la superficie interior de la jeringa es demasiado baja para permitir el deslizamiento por sí misma.

Todas las jeringas (tipos 1 a 3) se cerraron con el mismo tipo de tapón no siliconizado.

La vacuna a granel se distribuyó en dosis únicas de 0,5 mL, siendo cada una de las dosis como se describe en **A** y **B**.

35 Todas las jeringas de los tres tipos fueron almacenadas verticalmente a 25°C durante dos meses (envejecimiento acelerado). La desorción de HBsAg se midió en cada uno de los tres tipos a T = 0 (justo después de llenar las jeringas) y luego después de dos meses, tal como se describe en **A** - arriba.

40 A T (tiempo) = 0, el nivel de adsorción de HbsAg era idéntico en los tres tipos (se adsorbió el 94% del total de HBsAg). A T = 2 meses, se observó una desorción en todas las jeringas, pero el porcentaje de desorción difería dependiendo del tipo. El porcentaje de desorción más alto se encontró en el tipo (2) (a T = 1 y 2 meses, se adsorbió 60 y 58% del HBsAg total, respectivamente), mientras que el porcentaje de desorción se encontró similar en los tipos

ES 2 606 545 T3

(1) y (3) y definitivamente mucho menor que en el tipo (2): en el tipo (1), a T = 1 y 2 meses, se adsorbió 73% y 68% del HBsAg total, respectivamente. En el tipo (3), a T = 1 y 2 meses, se adsorbió 69% y 66% del HBsAg total, respectivamente.

5 De nuevo, esto indica claramente que (i) la adsorción de antígeno sobre un adyuvante de aluminio es sensible a la sílica libre cargada en una cantidad necesaria para el deslizamiento, y (ii) la polimerización de sílica permite superar este aspecto.

D - Se ha llevado a cabo un estudio de estabilidad a $5 \pm 3^\circ\text{C}$ durante 18 meses con las jeringas llenas descritas en **A** - (3). Al menos 80-90% del HBsAg total se adsorbió todavía al final del período de 18 meses.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un recipiente para almacenar y/o administrar una composición de vacuna, en donde el recipiente contiene una composición de vacuna que comprende un antígeno de la hepatitis B adsorbido sobre un adyuvante de oxihidróxido de aluminio y está cerrado por un dispositivo que actúa como un tapón, en donde la superficie del dispositivo contactable con la composición está revestida con un polímero fluorado.
- 2.- Un recipiente según la reivindicación 1, en donde la composición de vacuna está en forma líquida o liofilizada.
- 10 3.- Un recipiente según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el polímero fluorado se selecciona del grupo que consiste en politetrafluoroetileno (PTFE), politetrafluoropropileno (PFTP), etileno-propileno fluorado (FEP, un copolímero de hexafluoropropileno y tetrafluoroetileno), policlorotrifluoroetileno (PCTFE), copolímero de perfluoroalcoxi (PFA), poli(etileno-co-tetrafluoroetileno) (ETFE), poli(etileno-clorotrifluoroetileno) (ECTFE), poli(fluoruro de vinilo) (PVF) y poli(fluoruro de vinilideno) (PVVPF).
- 4.- Un recipiente según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde las superficies internas están revestidas con silicona polimerizada.
- 15 5.- Un recipiente según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el recipiente es el depósito de una jeringa que está cerrada por un émbolo.
- 6.- Un recipiente según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la composición de vacuna comprende, además, una o más de las siguientes valencias: valencia difteria, valencia tétanos, valencia *pertussis*, valencia polio y valencia Hib.
- 20 7.- Uso de un recipiente cerrado por un dispositivo que actúa como un tapón, en donde la superficie del dispositivo contactable con la composición está recubierta con un polímero fluorado, para almacenar una composición de vacuna que comprende un antígeno de la hepatitis B adsorbido sobre un adyuvante de oxihidróxido de aluminio.
- 8.- Uso según la reivindicación 7, en donde las superficies interiores del recipiente están recubiertas con silicona polimerizada.
- 25 9.- Uso según la reivindicación 7, en donde la composición de vacuna comprende, además, una o más de las siguientes valencias: valencia difteria, valencia tétanos, valencia *pertussis*, valencia polio y valencia Hib.