

UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

PROCESO DE ELABORACIÓN DE UNA VACUNA A PARTIR DE UN
PRINCIPIO ACTIVO SÓLIDO TERMOLÁBIL

MARIN LOAYZA CARLOS EDUARDO
BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

MACHALA
2021



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

PROCESO DE ELABORACIÓN DE UNA VACUNA A PARTIR DE
UN PRINCIPIO ACTIVO SÓLIDO TERMOLÁBIL

MARIN LOAYZA CARLOS EDUARDO
BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

MACHALA
2021



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

EXAMEN COMPLEXIVO

PROCESO DE ELABORACIÓN DE UNA VACUNA A PARTIR DE UN PRINCIPIO
ACTIVO SÓLIDO TERMOLÁBIL

MARIN LOAYZA CARLOS EDUARDO
BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

GARCIA MIR VIVIANA

MACHALA, 27 DE ABRIL DE 2021

MACHALA
27 de abril de 2021

Proceso de elaboración de una vacuna a partir de un principio activo sólido termolábil

por Carlos Eduardo Marin Loayza

Fecha de entrega: 18-may-2021 01:03p.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 1588961028

Nombre del archivo: MARIN_LOAYZA_CARLOS_EDUARDO.docx (29.47K)

Total de palabras: 3045

Total de caracteres: 17240

CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

El que suscribe, MARIN LOAYZA CARLOS EDUARDO, en calidad de autor del siguiente trabajo escrito titulado Proceso de elaboración de una vacuna a partir de un principio activo sólido termolábil, otorga a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tiene potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

El autor declara que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

El autor como garante de la autoría de la obra y en relación a la misma, declara que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asume la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.

Machala, 27 de abril de 2021



MARIN LOAYZA CARLOS EDUARDO
0704869528

DEDICATORIA

A mi Dios,

A mis padres,

A mis hermanos,

A mis familiares,

A Arturo Fernández,

A Mamá, por su apoyo incondicional e inenarrable,

A cada uno de ellos, les dedico mi trabajo y les doy, ¡Mis sempiternas Gracias...!

AGRADECIMIENTO

A Dios,

A mis padres,

A Arturo Fernández,

A mis docentes y compañeros,

A la Universidad Técnica Machala,

A mi tutora, la Dr. Viviana García Mir,

A las populares, por acompañarme en mi vida.

A todos ellos, les agradezco por haber formado parte de mí.

RESUMEN

La influenza A H1N1, es una enfermedad viral que afecta a las vías aéreas, y provoca la muerte en aproximadamente el 10% de las personas que la padecen. Para contrarrestar esta enfermedad, diversos laboratorios elaboraron diferentes vacunas. Las vacunas son generalmente preparados farmacéuticos en forma de suspensión, empleados para activar la inmunidad, no curan una enfermedad, sino que sirven para prevenir los efectos de futuras infecciones bacterianas o virales evitando así cualquier desenlace fatal. Las vacunas requieren de un complejo proceso de elaboración, con diferentes operaciones unitarias que se realizan en equipos especializados bajo condiciones estrictas de buenas prácticas de manufactura. El presente trabajo describe el proceso de elaboración de una forma farmacéutica inyectable (vacuna) a partir de antígenos de superficie del virus de la influenza H1N1 pdm 09, inactivados, en donde, se detallan las principales operaciones unitarias y equipos que se pueden emplear durante su fabricación. Tanto el ingrediente activo como las sustancias auxiliares empleadas en la elaboración de la vacuna, así como el producto terminado, deben de pasar por diferentes controles de calidad para asegurar su efectividad, seguridad y eficacia.

Palabras clave: Vacuna, influenza A H1N1, manufactura.

ABSTRACT

Influenza A H1N1 is a viral disease that affects the airways, and causes death in approximately 10% of people who suffer from it. To counteract this disease, various laboratories developed different vaccines. Vaccines are generally pharmaceutical preparations in suspension form, used to activate immunity, they do not cure a disease, but rather serve to prevent the effects of future bacterial or viral infections, thus avoiding any fatal outcome. Vaccines require a complex manufacturing process, with different unit operations that are carried out in specialized equipment under strict conditions of good manufacturing practices. This work describes the process of elaboration of an injectable pharmaceutical form (vaccine) from inactivated surface antigens of the influenza virus H1N1 pdm 09, where the main unit operations and equipment that can be used during its treatment are detailed. manufacturing. Both the active ingredient and the auxiliary substances used in the preparation of the vaccine, as well as the finished product, must go through different quality controls to ensure their effectiveness, safety and efficacy.

Keywords: Vaccine, influenza A H1N1, manufacturing.

ÍNDICE

DEDICATORIA	I
AGRADECIMIENTO	II
RESUMEN	III
ABSTRACT	IV
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Objetivos	2
1.1.1 Objetivo general	2
1.1.2 Objetivos específicos	2
II. DESARROLLO.....	3
2.1 Marco teórico	3
2.1.1 Influenza	3
2.1.1.1 Clasificación del virus de la influenza A.....	3
2.1.1.2 Estructura del virus H1N1	3
2.1.2 Vacunas.....	4
2.1.2.1 Respuesta inmunitaria.....	4
2.1.2.2 Tipos de vacunas	4
2.1.2.3 Etapas de elaboración de vacunas	5
2.1.2.4 Condiciones para la elaboración de vacunas	5
2.1.2.5 Composición de las vacunas.....	5
2.1.3 Formulación de la vacuna.....	5
2.2 Resolución del reactivo práctico.....	6
2.2.1 Control de calidad de un principio activo sólido termolábil	6
2.2.2 Operaciones unitarias empleadas en la elaboración de vacunas.....	7
2.2.2.1 Filtración	7
2.2.2.2 Esterilización.....	8
2.2.2.3 Filtración esterilizante.....	8
2.2.3 Equipos empleados en la producción de vacunas	8
2.2.4 Parámetros de control de calidad del producto final	9
2.2.5 Buenas prácticas de manufactura	9
III. CONCLUSIONES	10
IV. BIBLIOGRAFÍA	11
V. ANEXOS	15

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. Formulación de una suspensión inyectable para la influenza A H1N1 ¹⁸	6
--	---

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo nº1. Proceso de producción y operaciones unitarias en Vacunas contra la influenza a base de huevos.....	15
Anexo nº2. Equipo de la centrifugación GEA pharma separator aseptic X.....	15
Anexo nº3. Equipo de filtración Cogent® Process-Scale Tangential Flow Filtration System	16
Anexo nº4. Cromatógrafo de un solo uso empleado en vacunas.	16

I. INTRODUCCIÓN

Ha transcurrido más de un siglo, desde que en 1918 surgiera la primera pandemia causada por la influenza A H1N1 conocida como gripe española, y desde entonces, han ocurrido la gripe de origen asiático (1957), hongkonés (1968) y porcino (2009), causadas por la influenza, A H2N2, A H3N2 y A H1N1 pdm09, respectivamente^{1,2}.

La influenza estacional actualmente afecta a, aproximadamente, el 10% de la población mundial cada año, llegando a ocasionar hasta medio millón de muertes, siendo la vacunación la forma más efectiva para proteger a la población de contraer esta enfermedad³.

En el año 2019, en Ecuador, según la Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica del Ministerio de Salud Pública, hasta el 30 de noviembre, se reportaron 25 casos de infecciones respiratorias graves, de las cuales 24 (96%) fueron causadas por la influenza A H1N1 pdm09 y 1 (4%) fue causado por la influenza A H3N2; en cambio durante la temporada 2018-2019, se reportó 10 fallecidos y una letalidad del 2,7%⁴.

La influenza es causada por virus, que produce en el ser humano, una enfermedad respiratoria con síntomas como fiebre, tos, dolor de garganta, secreción nasal, dolores musculares o corporales, dolores de cabeza y/o síntomas gastrointestinales (vómitos y diarrea)¹

Debido a la rápida transmisión del virus, las farmacéuticas elaboraron sus propias vacunas para hacer frente a los virus de la influenza. Actualmente, los virus A (H1N1 y H3N2) así como el virus de la influenza B (linajes Yamagata y Victoria) son los causantes de epidemias como la influenza estacional¹.

Cada año en Estados Unidos, la Administración de Medicamentos y Alimentos (FDA), los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades, la Organización Mundial de la Salud (OMS) y otros expertos en salud pública, revisan los datos de laboratorio recopilados de todo el mundo para identificar las cepas que podrían causar enfermedades en la próxima temporada y seleccionan las cepas de influenza que los fabricantes deben incluir en sus vacunas, así como la cantidad de principio activo⁵.

Las vacunas son administradas de manera preventiva primordialmente a individuos sanos, ya sean lactantes, niños o adultos mayores⁶. La seguridad de una vacuna es evaluada en

sus fases preclínica y clínica, aunque también, se realiza un monitoreo después de obtener la licencia para la detección de cualquier efecto adverso raro o grave, que guarde alguna relación con la vacuna⁶.

Las vacunas son, principalmente, suspensiones, en donde el principio activo es un sólido termolábil, con un tamaño inferior a 5µm y con una proporción entre 0,5 y 5%, dispersado en una sustancia líquida⁷. Para su elaboración se requiere, principalmente, de procesos de mezclado, esterilizado y llenado, bajo un estricto control de calidad, que garantice la seguridad, efectividad e inocuidad del producto terminado⁷.

Actualmente, las organizaciones tanto a nivel nacional como internacional, como la Agencia de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria (ARCSA), Administración de Medicamentos y Alimentos (FDA), la Agencia europea del Medicamento (EMA), elaboran normativas y recomendaciones, de buenas prácticas de manufactura, que deben cumplir las empresas para obtener medicamentos seguros para el uso y consumo el humano.

Según el reactivo práctico, se desea preparar una vacuna contra la influenza A H1N1 a partir de un principio activo sólido termolábil, que se incorpora con los excipientes para formar una solución homogénea y estéril, en donde se detalle las operaciones unitarias, equipos, mecanismos y cuidados que tiene el proceso. Por ello el presente trabajo se enfoca en la descripción de la influenza, vacunas, formulación, proceso de elaboración, operaciones unitarias y equipos empleados en la producción de una vacuna.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo general

Describir el proceso de elaboración de una forma farmacéutica inyectable (vacuna) a partir de antígenos de superficie del virus de la influenza A H1N1 pdm09, inactivados.

1.1.2 Objetivos específicos

1. Determinar los parámetros de calidad de un principio activo termolábil
2. Describir las operaciones unitarias y equipos empleados en la elaboración de una vacuna.
3. Determinar los controles de calidad de una vacuna

II. DESARROLLO

2.1 Marco teórico

2.1.1 Influenza

La influenza o gripe A H1N1, es una enfermedad viral, aguda y febril que afecta al aparato respiratorio, se encuentra distribuida universalmente y puede llegar a afectar a personas de cualquier edad produciendo complicaciones severas e incluso mortales⁸. Es producida por los virus de la familia *Orthomyxoviridae*, se clasifican en cuatro tipos (A, B, C y D), siendo los dos primeros los causantes de brotes y epidemias en humanos^{8,9}.

2.1.1.1 Clasificación del virus de la influenza A

El virus de la influenza A, se clasifica en subtipos de acuerdo a los antígenos, hemaglutinina (H) y neuraminidasa (N), encontrados en la envoltura de la cápside del virus⁸⁻¹⁰. Actualmente existen 18 subtipos de H y 11 de N, de los cuales, los subtipos H1N1 y H3N2 afectan mayoritariamente a los humanos^{9,11}.

2.1.1.2 Estructura del virus H1N1

En cuanto a su estructura, el virus de la gripe A, posee 8 genomas segmentados, que utiliza para codificar a las proteínas virales: hemaglutinina (H), neuraminidasa (N), proteínas de matriz (M1 y M2), nucleoproteína (NP), proteína proapoptótica PB1-F2, proteínas no estructurales (NS1 y NS2), ARN polimerasa heterotrimérica dependiente de ARN, la cual está compuesta de una polimerasa ácida (PA) y dos polimerasas básicas (PB1 y PB2)¹².

2.1.1.3 Interacción virus-hospedador

La transmisión del virus H1N1 se debe a dos glicoproteínas localizadas en su superficie, la hemaglutinina (H) y la neuraminidasa (N), siendo la primera, responsable de la unión al receptor, el ácido siálico, en la superficie celular del epitelio respiratorio, mientras que la N, es una sialidasa, que libera el ácido siálico de los sialoconjugados de glicoproteína y glicolípidos, a los que están unidos los viriones producidos, para ayudar a su liberación y proliferación¹³.

2.1.2 Vacunas

Las vacunas son preparados estériles almacenados en envases apropiados y empleados para ser administrados por vía subcutánea o intramuscular, nasal u oral¹⁴. Estos preparados pueden ser soluciones, suspensiones o emulsiones, acuosas u oleosas y a diferencia de los inyectables, inducen a una respuesta inmunitaria frente a un patógeno ya sea bacteria o virus, sin el riesgo de contraer la enfermedad y sus posibles consecuencias¹⁵.

2.1.2.1 Respuesta inmunitaria

Las vacunas inician la respuesta inmune innata, que a su vez activa la respuesta adaptativa según el antígeno. La inmunidad innata reacciona, primeramente, pero no es específica y carece de memoria, en cambio, la inmunidad adaptativa logra reconocer y exterminar los patógenos conocidos⁶. Los patógenos al igual que las vacunas contienen antígenos que activan a los linfocitos T y estimulan a los linfocitos B para que produzcan anticuerpos específicos para ese antígeno, brindando protección a largo plazo gracias a estas células de memoria, que pueden reactivarse cuando se exponen al patógeno⁶. Si esto ocurre, la persona ya contará con anticuerpos para hacer frente a dicha enfermedad, por lo que los síntomas serán mínimos⁶.

2.1.2.2 Tipos de vacunas

Actualmente existen diversos tipos de vacunas como:

- Ø **Vacunas vivas atenuadas:** contienen patógenos debilitados o alterados para ser menos virulentos, no causan la enfermedad real solo la imitan levemente⁶.
- Ø **Vacunas inactivadas:** se producen inactivando patógenos mediante calor, radiación o sustancias químicas como el formaldehído, destruyendo así la capacidad del patógeno para replicarse y causar la enfermedad⁶.
- Ø **Vacunas de subunidades:** contienen fragmentos del patógeno como antígenos, toxoides (toxinas bacterianas inactivadas), polisacáridos simples o conjugados con proteínas y además suelen contener adyuvantes para mejorar su eficacia⁶.

2.1.2.3 Etapas de elaboración de vacunas

Las vacunas, para ser empleadas en los humanos deben de cumplir una serie de fases: exploratoria y preclínica, solicitud de autorización de ensayo clínico, ensayo de fase I, ensayos de fase II, ensayo de fase III, aprobación y licencia, monitoreo posterior a la licencia y modificaciones de licencia¹⁶

2.1.2.4 Condiciones para la elaboración de vacunas

Las vacunas, para poder ser soportadas por el cuerpo humano deben de poseer las mismas condiciones que el tejido en donde vaya a ser administrada, como la neutralidad (con pH cercano a 7), e isotonía (con la misma osmolaridad), además deben de ser estériles (libre de microorganismos), apirogénicas (libre de polisacáridos bacterianos) y límpidas (sin partículas suspendidas)¹⁵

2.1.2.5 Composición de las vacunas

Las vacunas están compuestas por uno o más principios activos y excipientes (solubilizadores, reguladores del pH, isotonzantes, conservantes, antioxidantes y otros, como los viscosantes, tensioactivos, anestésicos locales o vasoconstrictores)^{14,15,17}.

2.1.3 Formulación de la vacuna

La formulación que se muestra en la Tabla 1, considerada para la resolución del reactivo práctico, fue establecida por la farmacéutica Abbot, en su vacuna Influxac, contra la influenza. Los compuestos como el formaldehído, sulfato de gentamicina, polisorbato 80, bromuro de cetil trimetil amonio e hidrocortisona no forman parte de la formulación de la vacuna, sin embargo, se encuentran en la vacuna ya que forman parte del proceso de elaboración del principio activo¹⁸.

Los tensoactivos no iónicos, como el polisorbato 80 pueden ser empleados como viscosantes, para reducir la velocidad de sedimentación o como detergente para fragmentar virus, en cambio los isotonzantes u osmolitos aumentan la estabilidad y facilitan los ensamblajes de proteínas^{17,19}.

El formaldehído es empleado para inactivar los virus, en cambio la sacarosa es agregada como estabilizante para proteger la vacuna de procesos como la liofilización, aunque

también es usada como viscosante e isotonzante. Además, se emplean algunos antibióticos, con el fin de prevenir contaminaciones bacterianas durante su fabricación, y conservantes, para prevenir la proliferación de bacterias u hongos que pueden introducirse en la vacuna durante su uso²⁰.

TABLA 1. Formulación de una suspensión inyectable para la influenza A H1N1¹⁸

COMPONENTE	CANTIDAD	FUNCIÓN
Antígenos de superficie del virus de la influenza H1N1 pdm09 (hemaglutinina y neuraminidasa), inactivados.	15 µg	Principio activo
Cloruro de potasio	0,10 mg	Isotonizante
Fosfato de potasio monobásico	0,10 mg	Regulador del pH
Fosfato disódico (dihidratado)	0,50 mg	Regulador del pH
Cloruro de sodio	4,0 mg	Isotonizante
Cloruro de calcio dihidratado	0,05 mg	Regulador del pH
Cloruro de Magnesio hexahidratado	0,02 mg	Regulador del pH
Citrato de sodio	≤1,0 mg	Isotonizante
Bromuro de cetil trimetil amonio	≤15,0 µg	Viscosizante-Isotonizante
Sacarosa	≤0,2 mg	Viscosizante-Estabilizador
Formaldehído 35%	≤0,01 mg	Conservante
Polisorbato 80	Trazas	Detergente-Disruptor
Sulfato de gentamicina	<1 ng	Conservante
Hidrokortisona	Trazas	Antiinflamatorio
Tartrato tilosina	Trazas	Conservante
Agua para inyecciones c.s.p.	0,5 mL	Vehículo

2.2 Resolución del reactivo práctico

La metodología para la resolución de este reactivo es deductiva y descriptiva, basada en técnicas e instrumentos como la búsqueda y recolección de información bibliográfica en artículos científicos, libros manuales con el fin de resolver el reactivo práctico.

2.2.1 Control de calidad de un principio activo sólido termolábil

Existen diferentes tecnologías empleadas para elaborar los principios activos a utilizarse en la fabricación de una vacuna, y por ello tenemos vacunas derivadas de huevos, de cultivos celulares, en células de Vero obtenidas del riñón de mono verde africano y en células MDCK obtenidas del riñón canino Madin-Darby y vacunas derivadas de ADN recombinante que emplean baculovirus^{8,9,21}.

Las pruebas de control de calidad del principio activo dependen de la forma en la que se obtuvo el ingrediente activo. Como en la formulación propuesta, el principio activo fue obtenido a partir de huevos, entonces las pruebas de control de calidad a realizarse son la determinación de: agentes extraños, virus de la neurosis aviar y principio activo²². Hay que tener en cuenta que, para la elaboración del ingrediente activo a partir de embriones de pollo, estos deben derivar de huevos producidos por manadas de pollos libres de los patógenos especificados (SPF)²³.

2.2.2 Operaciones unitarias empleadas en la elaboración de vacunas

El proceso de fabricación de vacunas requiere, principalmente, de dos operaciones unitarias como son el filtrado y la esterilización, aunque ambas pueden realizarse con la filtración esterilizante. El proceso de fabricación, además, va a requerir de otros métodos de filtración, y otras técnicas, tal como se observa en el Anexo 1.

2.2.2.1 Filtración

La filtración es un proceso en el que se separa una sustancia sólida de una líquida presente en una mezcla, ya sea en forma de suspensión, dispersión o flujo, las cuales atraviesan un medio poroso, donde los sólidos se depositan¹⁵. Cuando se recobra el sólido, al proceso se denomina filtración de la torta, en cambio cuando el filtrado es el producto principal, y las sustancias sólidas no superan el 1%, entonces el proceso se denomina clarificación²⁴.

Existen diversos tipos de filtración dependiendo del tamaño de partícula a obtener, como la microfiltración, ultrafiltración, diafiltración, nanofiltración, que pueden ser empleadas en las vacunas para clarificar, separar y esterilizar. La ultrafiltración es la más empleada en productos lábiles al calor, como vacunas, ya que recupera antibióticos, clarifica soluciones y elimina agentes contaminantes que poseen muy poco peso molecular, pero su aplicación más importante es la eliminación de pirógenos, ya que utiliza filtros cuya porosidad oscila entre 0,2 y 0,002 μm ^{7,24}. En cuanto al mecanismo de filtrado, el más empleado es el de atrapamiento, que detiene las partículas en un medio filtrante que posee una membrana de celulosa o vidrio¹⁵.

2.2.2.2 Esterilización

La esterilidad es una condición que garantiza la ausencia de cualquier microorganismo vivo¹⁵. No existe un procedimiento único o universal para la esterilización por lo que se debe de elegir el método más apropiado en función de su estabilidad a los cambios de temperatura, radiación o sustancias químicas⁷. Cuando se trata de una vacuna, por lo general, sus componentes, materiales y equipos, se esterilizan por separado, y luego el producto final se esteriliza mediante filtración esterilizante, ya que los principios activos utilizados suelen ser termolabiles⁷.

2.2.2.3 Filtración esterilizante

La filtración esterilizante es una ultrafiltración empleada para separar microorganismos presentes en una disolución⁷. Se caracteriza por filtrar, aclarar y esterilizar soluciones lábiles al calor, para lo cual se emplean filtros de membrana que poseen una porosidad de 0,22 micras lo cuales podrían taparse fácilmente, por lo que suele utilizarse un prefiltro para retener materiales coloidales¹⁵.

2.2.3 Equipos empleados en la producción de vacunas

Una vacuna, al ser líquida, va a requerir de equipos para almacenarlos, prepararlos, retener sustancias, transferirlos o mezclarlos como los siguientes²⁵:

- **Centrifugador:** La centrifugación en gradiente de sacarosa es el método más empleado para aislar y purificar partículas muy pequeñas, en donde estas migran según un gradiente de densidad, que tiene densidades más bajas, que los compuestos que se centrifugan²⁶. A mayor tamaño, más rápidamente se sedimentan las partículas y además lo hacen a velocidades diferentes²⁶. Actualmente, existen diversas centrífugas en el mercado para cualquier capacidad y con varias funciones, tal como GEA pharma separator aseptic X (ver Anexo 2), que además de separar, clarifica²⁷.
- **Filtrador:** Después de centrifugar el líquido alantoideo, el sobrenadante obtenido es inactivado y fragmentado con tensoactivos no iónicos como el polisorbato 80 y luego el ultrafiltrado o diafiltrado con una membrana de 2-1,2 μ m. Existen en el mercado diferentes equipos de filtrado, aunque los más empleados en vacunas son los de flujo tangencial como el equipo Cogent® Process-Scale Tangential Flow Filtration System (ver Anexo 3)²⁸.

- **Cromatógrafo:** Después de filtrar los componentes virales fragmentados, aún quedan residuos de proteínas que se deben purificar mediante métodos de separación que se llevan a cabo por la cromatografía líquida, en donde los solutos de la fase móvil interactúan con la fase estacionaria de la columna. Existen diferentes tipos de cromatógrafos, ya sean de acero inoxidable o de un solo uso (como el del Anexo 4), aunque los más usados son los de exclusión molecular, los de intercambio iónico, los de interacción hidrofóbica y los de fase reversa²⁹.

Además, se emplean otros equipos como **homogeneizadores**, para conseguir una uniformidad del contenido, recipientes (de almacenamiento y transporte) y dosificadores. La mayoría de los equipos empleados, suelen ser de un solo uso, ya que los equipos de acero inoxidable requieren de una serie de desinfecciones y controles para volver a ser reutilizados, lo que requiere de tiempo y dinero³⁰.

2.2.4 Parámetros de control de calidad del producto final

Una vez obtenido un lote de vacunas, este debe ser liberado por el organismo de control. Según la décima edición de la farmacopea europea (2019), solo se puede liberar un lote final si cumple con los requisitos de control que se indican a continuación: estabilidad térmica, identificación del principio activo, ovoalbúmina, proteína total, contaminación bacteriana y fúngica, además, suelen realizarse otros ensayos de control para determinar la limpidez, el pH, la isotonía, el sellado de envases, la uniformidad de contenido y el rotulado⁷.

2.2.5 Buenas prácticas de manufactura

A nivel internacional, la Conferencia Internacional de Armonización (ICH) proporciona orientación y requisitos científicos y normativos para la fabricación de productos farmacéuticos y biológicos en Estados Unidos, Europa y Asia. Estas pautas y requisitos no reemplazan las BPM de un país, sin embargo, si aplican la guía ICH cumplirán también con los requisitos GMP nacionales e internacionales, cuya inspección es llevada a cabo por órganos de control y vigilancia como la FDA, EMA y en el caso de Ecuador, por la ARCSA. La ICH establece los requisitos de estabilidad (Q1), calidad (Q5), BPM (Q7), y desarrollo-fabricación de sustancias farmacéuticas (Q11)³⁰. Así mismo las farmacopeas de los distintos países recogen información acerca de las normas de calidad que deben de tener los principios activos, excipientes y medicamentos que vayan a ser expendidos.

III. CONCLUSIONES

En el presente trabajo se describe el proceso de elaboración de una suspensión inyectable (vacuna) a partir de un principio activo termolábil obtenido de embriones de pollo, así como las operaciones unitarias y equipos empleados para ello.

Estas vacunas contienen ingredientes activos lábiles, que deben de cumplir con diferentes requisitos de calidad como la determinación del principio activo, de agentes extraños y del virus de la neurosis aviar, con el fin de garantizar su seguridad y actividad terapéutica.

El proceso de elaboración de una vacuna es un método complejo que requiere estrictas normas de calidad y de buenas prácticas, no solo de manufactura sino también de almacenamiento, distribución y transporte, y tiene que pasar por diferentes fases y controles tanto antes de su elaboración como después, convirtiendo a esta forma farmacéutica en una de las más difíciles de elaborar.

Para el proceso de elaboración de una vacuna se tomó como modelo una formulación conocida, la cual requiere, principalmente, de operaciones unitarias como la separación, filtrado, esterilización y homogeneización, que se pueden llevar a cabo en centrifugadoras, cromatógrafos, filtradores y homogeneizadores,

Se establecieron los diferentes controles de calidad del producto terminado, dispuestos en la décima edición de la farmacopea europea (2019) para liberar los lotes de una vacuna para la influenza A H1N1, con la finalidad de asegurar su inocuidad, seguridad y eficacia.

IV. BIBLIOGRAFÍA

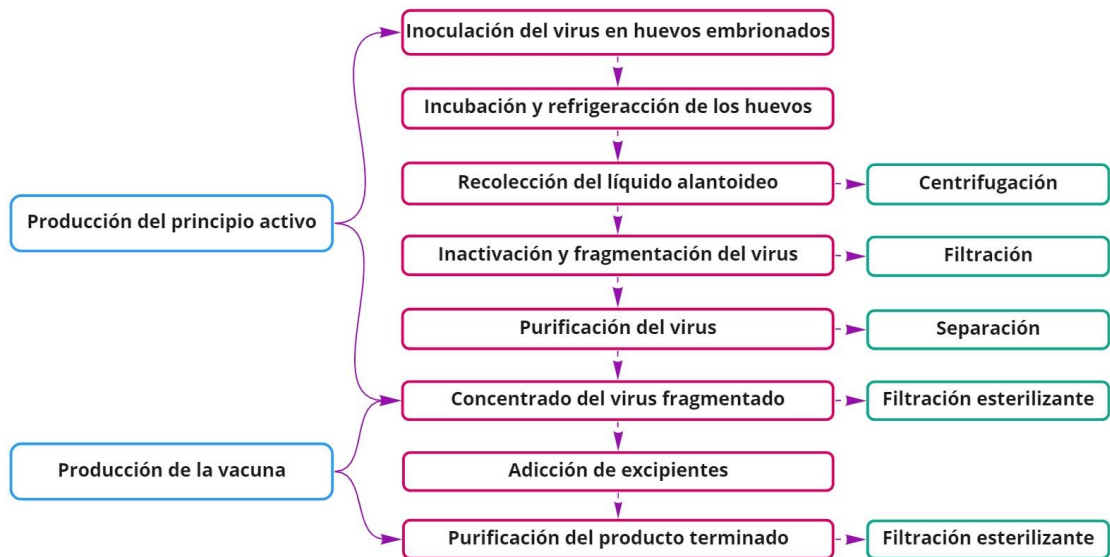
- (1) Yamayoshi, S.; Kawaoka, Y. Current and Future Influenza Vaccines. *Nat. Med.* **2019**, *25* (2), 212–220. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0340-z>.
- (2) Ganguly, M.; Yeolekar, L.; Tyagi, P.; Sagar, U.; Narale, S.; Anaspure, Y.; Tupe, S.; Wadkar, K.; Ingle, N.; Dhere, R.; Scorza, F. B.; Mahmood, K. Evaluation of Manufacturing Feasibility and Safety of an MDCK Cell-Based Live Attenuated Influenza Vaccine (LAIV) Platform. *Vaccine* **2020**, *38* (52), 8379–8386. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2020.10.092>.
- (3) Sun, Y.; Shen, Z.; Zhang, C.; Yi, Y.; Zhu, K.; Xu, F.; Kong, W. Development of a Stable Liquid Formulation for Live Attenuated Influenza Vaccine. *J. Pharm. Sci.* **2019**, *108* (7), 2315–2322. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2019.02.017>.
- (4) Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica, Ministerio de Salud Pública del Ecuador. Influenza. Actualización Epidemiológica <https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2019/12/INFLUENZA-SEE-48.pdf> (accessed Mar 27, 2021).
- (5) Food and Drug Administration. Influenza Virus Vaccine Composition and Lot Release <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/lot-release/influenza-virus-vaccine-composition-and-lot-release> (accessed Mar 26, 2021).
- (6) Vetter, V.; Denizer, G.; Friedland, L. R.; Krishnan, J.; Shapiro, M. Understanding Modern-Day Vaccines: What You Need to Know. *Ann. Med.* **2018**, *50* (2), 110–120. <https://doi.org/10.1080/07853890.2017.1407035>.
- (7) Vila Jato, J. L. *Tecnología Farmacéutica Volumen II: Formas Farmacéuticas*; **2008**. ISBN:8477385394.
- (8) Martínez, R.; Amín, N.; Aguilar, A.; Camacho, F.; Perez, E. M. Influenza . Vacunas Clásicas y Novedosas a Las Puertas de Otra Pandemia. *Vaccimonitor* **2006**, *15* (2), 22–29.

- (9) Domínguez, A.; Godoy, P.; Torner, N. The Effectiveness of Influenza Vaccination in Different Groups. *Expert Rev. Vaccines*. **2016**, *15* (6), 751–764. <https://doi.org/10.1586/14760584.2016.1142878>.
- (10) Memorandum, W. H. O. A Revision of the System of Nomenclature for Influenza Viruses: A WHO Memorandum. *Bull. World Health Organ*. **1980**, *58* (4), 585–591.
- (11) Barriga Reyes, N. M.; López Londo, A. J.; Chávez Almeida, J. F.; Galarza Galarza, J. G. Influenza: Actualización de Cepas. *Reciamuc* **2019**, *3* (3), 595–625. [https://doi.org/10.26820/reciamuc/3.\(3\).julio.2019.595-625](https://doi.org/10.26820/reciamuc/3.(3).julio.2019.595-625).
- (12) James, S. H.; Whitley, R. J. 172 - Influenza Viruses. In *Infectious Diseases*; Elsevier Ltd, **2017**; pp 1465-1471.e1. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-6285-8.00172-6>.
- (13) Benton, D. J.; Wharton, S. A.; Martin, S. R.; McCauley, J. W. Role of Neuraminidase in Influenza A(H7N9) Virus Receptor Binding. *J. Virol*. **2017**, *91* (11). <https://doi.org/10.1128/jvi.02293-16>.
- (14) Álvarez García, F. Características Generales de Las Vacunas. *Pediatr. Integr.* **2015**, *19* (10), 666–674.
- (15) Lozano, M. del C.; Córdoba, D.; Córdoba, M. *Manual de Tecnología Farmacéutica*; Madrid, **2012**. ISBN: 978-84-8086-600-2.
- (16) Plotkin, S.; Robinson, J. M.; Cunningham, G.; Iqbal, R.; Larsen, S. The Complexity and Cost of Vaccine Manufacturing – An Overview. *Vaccine* **2017**. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2017.06.003>.
- (17) Martínez Pacheco, R. *Tratado de Tecnología Farmacéutica*; Madrid, **2016**; Vol. III. ISBN: 978-84-917160-3-7.
- (18) Abbot. Influvac. Vacuna antigripal-antígeno de superficie inactivado https://www.medicine.abbott/content/dam/bss/divisionalsites/epd/ar/documents/primary_care/INFLUVAC.pdf (accessed Mar 30, 2021).

- (19) Hasan, T.; Kumari, K.; Devi, S. C.; Handa, J.; Rehman, T.; Ansari, N. A.; Singh, L. R. Osmolytes in Vaccine Production, Flocculation and Storage: A Critical Review. *Hum. Vaccines Immunother.* **2019**, *15* (2), 514–525. <https://doi.org/10.1080/21645515.2018.1526585>
- (20) Food and Drug Administration. Common Ingredients in U.S. Licensed Vaccines <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/safety-availability-biologics/common-ingredients-us-licensed-vaccines> (accessed Mar 27, 2021).
- (21) Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. Cómo se hacen las vacunas contra la influenza <https://espanol.cdc.gov/flu/prevent/how-fluvaccine-made.htm> (accessed Mar 28, 2021).
- (22) European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare of the Council of Europe. 2.7.1. Immunochemical Methods. In *European Pharmacopoeia*; **2008**.
- (23) European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare of the Council of Europe. 5.2.2. Chicken Flocks Free from Specified Pathogens for the Production and Quality Control of Vaccines. In *European Pharmacopoeia*; **2010**.
- (24) Espinoza, B. *Operaciones Unitarias Farmacéuticas*; **2019**. ISBN:978-607-30-1996-5.
- (25) Łacki, K. M.; Joseph, J.; Eriksson, K. O. *Downstream Process Design, Scale-Up Principles, and Process Modeling*; 2018. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100623-8.00032-3>
- (26) Serwer, P. Bacteriophages: Separation Of. *Encycl. Sep. Sci.* **2000**, 2102–2109. <https://doi.org/10.1016/b0-12-226770-2/07381-6>
- (27) Gea. GEA pharma separator aseptic X <https://www.gea.com/en/products/centrifuges-separation/centrifugal-separator/pharma-separator-aseptic-x.jsp> (accessed Apr 3, 2021).

- (28) Merck. Cogent ® Process-Scale Tangential Flow Filtration System https://www.merckmillipore.com/INTL/en/product/Cogent-Process-Scale-Tangential-Flow-Filtration-System,MM_NF-C173675 (accessed Apr 5, 2021).
- (29) Mayolo-Deloisa, K.; Martínez, L. M.; Rito-Palomares, M. Técnicas Cromatográficas y Su Aplicación a Estudios de Cambios Conformacionales, Estabilidad y Replegamiento de Proteínas. *Rev. Mex. Ing. Quim.* **2012**, *11* (3), 415–429.
- (30) Gomez, P.; Robinson, J.; Rogalewicz, J. Vaccine Manufacturing. *Vaccines* **2013**, No. January, 44–57. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-0090-5.00019-7>.

V. ANEXOS



Anexo n°1. Proceso de producción y operaciones unitarias a emplearse en vacunas contra la influenza, obtenidas a base de huevos.



Anexo n°2. Equipo para la centrifugación, GEA pharma separator aseptic X



Anexo nº3. Equipo de filtración Cogent® Process-Scale Tangential Flow Filtration System



Anexo nº4. Cromatógrafo de un solo uso empleado en vacunas.