



INTRODUCCIÓN

La expresión del AgsHBr se logró en la levadura *Pichia pastoris*; el método de purificación empleado se basó en una cromatografía de inmunoadfinidad, la cual utiliza como inmunoreactivo AcM de ratón CB.Hep-1 producido mediante la inducción de tumores ascíticos en ratones Balb/c, esto trae aparejado un sin número de problemas (éticos, biológicos, regulatorios), siendo un tema recurrente en los debates de las organizaciones regulatorias a nivel global. El Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología de Cuba no ha estado exento de estos debates por lo cual se ha propuesto la implementación de la tecnología “in vitro” para la obtención del AcM CB.Hep-1 y de esta manera cumplir con lo regulado por las empresas del primer mundo (FDA, OMS, EMEA), mercado importante a seguir conquistando con productos cubanos.

METODOLOGÍA

En el estudio inicial de la comparación de las tecnologías de producción de anticuerpos monoclonales, se realizó un análisis de los riesgos para la calidad del producto, con el propósito de determinar las ventajas, desventajas, debilidades, puntos críticos y fallos que pudiesen ocurrir durante la obtención del AcM CB.Hep-1 empleando las diferentes alternativas

utilizando AMEF como herramienta avanzada desde el punto de vista de riesgos para la calidad.

El impacto de NPR se calculó por la ecuación siguiente:

$$NPR = (S) \cdot (O) \cdot (P)$$

Escala	Severidad	Frecuencia	Probabilidad de detección
1 a 2	Baja	Baja	Alta capacidad de detección
3 a 5	Moderada	Moderada	Alta capacidad de detección
6 a 8	Alta	Alta	Baja capacidad de detección
9 a 10	Muy alta	Muy alta	Prácticamente indetectable

Tabla 1. Escala del del nivel de riesgo, severidad, frecuencia y probabilidad de detección

NPR	Impacto
<42	No tiene impacto sobre el proceso y no requiere validación.
42-143	No tiene un impacto significativo sobre la calidad del proceso o producto, pero debe ser documentado.
144-279	No afecta directamente la calidad del producto, pero deben tomarse acciones
> 279	Tiene un impacto directo en la calidad del producto

Tabla 2. Escala de Número de probabilidad de riesgo

RESULTADOS

Causas potenciales	O	S	D	NPR	Categorías
Animales con peso fuera de especificación	4	6	3	72	Materiales
Baja capacidad de adsorción de la cromatografía de afinidad	5	4	6	120	Materiales
Incorrecto o problemas con el almacenamiento de las células	2	8	8	128	Metodología
Baja o alta temperatura durante la descongelación de la fuente biológica	3	5	4	60	Equipamiento
Retraso en el tiempo de purificación	4	4	5	80	Equipamiento
Baja concentración de anticuerpo en la fuente biológica	2	4	5	40	Mediciones
Control microbiológico del AcM fuera de especificación	2	9	5	90	Mediciones
Incorrecta preparación del medio de cultivo y suplementos	3	5	6	90	Personal
Pérdida de integridad de la membrana de filtración	2	9	5	90	Equipamiento
Incorrecto ensamblaje de las columnas de purificación	4	5	6	120	Personal
Incorrecto valor de pH del tampón de elución de la cromatografía de afinidad	2	9	7	126	Personal
Personal no calificado	2	6	5	60	Personal
Insuficiente sistemas de documentación	2	5	6	60	Personal
Pobre regeneración de las matrices cromatográficas	3	7	6	126	Personal
Contaminación de la fuente biológica con agentes microbianos	3	10	6	180	Personal
Mala esterilidad de los materiales	5	5	4	100	Personal
Fallo en el suministro de materias primas	4	5	4	80	Materiales
Cabinas de flujo laminar no calificadas	4	2	7	56	Equipamiento
Filtros de aire en mal estado	5	2	3	30	Equipamiento
Instrumentos no calibrados	5	5	5	125	Equipamiento
Incumplimiento en los procedimientos	5	2	7	70	Personal
Incorrecto almacenamiento del eluato	5	3	7	105	Metodología
Límites microbianos del AcM fuera de especificación	7	3	5	105	Mediciones
Fallos en los ensayos de microbiología	7	3	5	105	Mediciones
Incorrecta limpieza e higienización del área	5	3	6	90	Ambiente
Falta de clima en el laboratorio	4	3	10	120	Ambiente
Cabinas de flujo laminar no calificadas	4	2	7	56	Equipamiento

Causas potenciales	O	S	D	NPR	Categorías
Preparación incorrecta del medio de cultivo celular y suplementos.	5	6	3	90	Personal
Incorrecto o problemas en el almacenamiento de las células	2	8	8	128	Metodología
Baja concentración de AcM en la fuente biológica	3	6	7	126	Mediciones
Empaque incorrecto de columnas de purificación	4	4	6	96	Personal
Baja capacidad de adsorción en la cromatografía de afinidad.	5	4	6	120	Materiales
Valor de pH incorrecto del tampón de elución en la cromatografía de afinidad.	2	9	6	108	Personal
Pobre regeneración de matrices cromatográficas	3	6	5	90	Personal
Pérdida de la integridad de la membrana del filtro	2	8	6	96	Equipamiento
Controles microbiológicos del AcM purificado fuera de especificación	7	3	5	105	Mediciones
Patrón de glicosilación diferente a AcM producido por ascitis.	2	7	5	70	Mediciones
Personal no calificado	3	4	8	96	Personal
Mala esterilización de los materiales	5	5	4	100	Personal
Cabina de flujo laminar no calificada	4	3	7	84	Equipamiento
Incorrecto almacenamiento del eluato	5	3	7	105	Metodología
Fallo en el ensayo de microbiología	7	3	5	105	Mediciones
Desconocimiento de la tecnología	4	3	8	96	Personal
No control de parámetros críticos (O ₂ , disuelto, pH, temperatura)	4	5	7	140	Equipamiento
Formación de espuma	5	4	6	120	Equipamiento
Acumulación de metabolitos desechos	7	7	4	196	Mediciones
Problema de funcionamiento de las bombas de extracción y suministro	4	3	7	84	Equipamiento
Problemas en la sincronización del Software y el Biorreactor	4	4	8	128	Equipamiento

CONCLUSIONES

- En el proceso de fabricación del AcM CB.Hep-1 empleando la metodología in vivo se detectaron 26 causas de posibles fallos pero sólo existe un riesgo de impacto indirecto relacionado con la contaminación de agentes como virus, bacterias, levaduras, priones y micoplasma, con un valor de (NPR= 180), y empleando la metodología in vitro se detectaron 22 causas, pero solo una de ellas tiene impacto indirecto en el producto la cual está relacionada con la acumulación de metabolitos tóxicos con un (NPR= 140), pero tomando las acciones pertinentes no llega a afectar la calidad del producto.

- La tecnología “in vitro” brinda un ambiente seguro y confiable por lo que debería ser la opción para la fabricación de AcM CB.Hep-1 en términos de riesgo y regulación.

BIBLIOGRAFÍA

- MENÉNDEZ G., P. S. APLICACIÓN DEL MÉTODO DE ANÁLISIS DE RIESGO PARA DOS TECNOLOGÍAS: “IN VIVO” E “IN VITRO” PARA LA PRODUCCIÓN DEL CB.HEP-1. 2018.