

AVANZANDO EN LA PRODUCCIÓN DE TOXOIDE TETÁNICO EN ESPROMED BIO, CA.

Arzolay M*, Faría M.

ANTECEDENTES

El tétanos es una enfermedad infecciosa grave, causada por la bacteria *Clostridium tetani*; este microorganismo es un bacilo estrictamente anaerobio esporulado. Las esporas están extendidas en el ambiente, sobre todo en los suelos de las zonas cálidas y húmedas (Gutiérrez y col., 2008). Esta enfermedad es prevenible por medio de la inmunización con vacunas que contienen toxoide tetánico, una neurotoxina modificada que induce la formación de una antitoxina protectora. El uso del toxoide tetánico desde 1923 ha reducido considerablemente los casos de tétanos, especialmente en países industrializados. Sin embargo, esta enfermedad continúa siendo un problema de salud pública en los países en vías de desarrollo, en los cuales la cobertura de vacunación puede ser tan baja como el 20 % de la población (Oladiran y col., 2002; Demain y col., 2005).

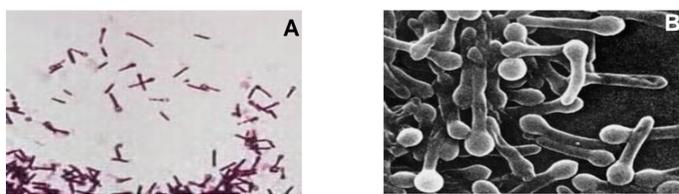


Figura 1.- Bacteria *Clostridium tetani*: (A) Tinción gram, (B) Micrografía con microscopio electrónico.

En Venezuela, este antígeno fue elaborado desde hace más de 50 años por el Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel" mediante el uso del Fermentador Caracas, un equipo de limitada capacidad (Figura 2A). En la actualidad, la Empresa Socialista para la Producción de Medicamentos Biológicos C.A, se encargará de continuar la producción de este antígeno, a nivel industrial, mediante la utilización de un fermentador anaeróbico (Figura 2B) con un volumen de trabajo de 500 litros.

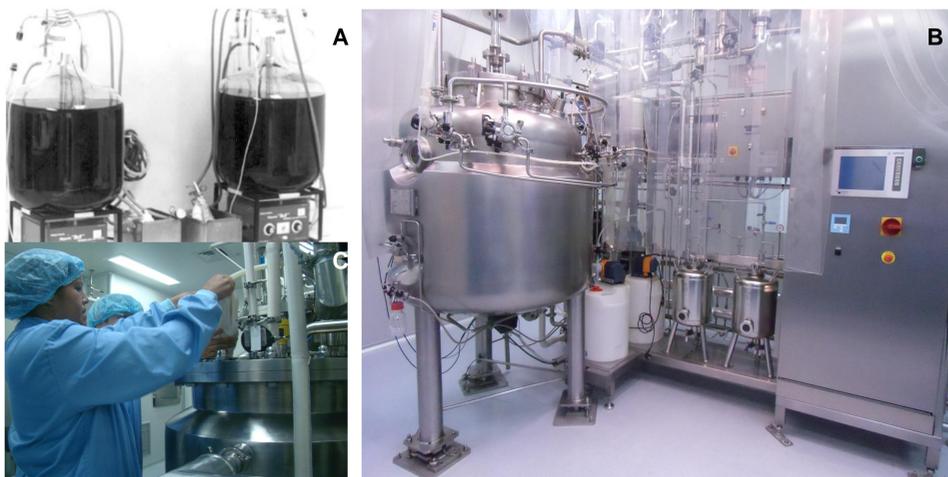


Figura 2.- (A) Fermentador Caracas, (B) Fermentador Anaeróbico, (C) Técnico del área de producción agregando el NZ-Case TT al tanque de desferretización.

AVANCES

Para el inicio de la producción de la toxina tetánica bajo este sistema de fermentación, en el Área de producción de Toxoide Tetánico se están realizando una serie de pruebas con el propósito de **estandarizar los procesos y posteriormente iniciar la elaboración de los lotes de consistencia**. Dentro de los avances obtenidos hasta el momento, podemos destacar:

Estandarización del proceso de preparación y activación del medio Latham: en el tanque de desferretización se preparó el NZ-Case TT a una concentración de 28 g/L. Para la desferretización, se hizo reaccionar el NZ-Case TT con una solución con Cloruro de Calcio Dihidratado y Fosfato de Potasio Dibásico en medio básico y a una temperatura de 70° C, durante una hora. El sobrenadante obtenido fue transferido al tanque de preparación de medios, donde se incorporaron las soluciones de vitaminas y factores de crecimiento.

Posteriormente el medio fue transferido al fermentador, donde se procedió a realizar la activación del mismo mediante un proceso de esterilización a 121 °C, durante 20 minutos. En la tabla 1 se pueden observar los resultados obtenidos en este proceso. Sin embargo, se requieren realizar otras pruebas para mejorar la eficiencia del proceso.

Tabla 1.- Resultados de los análisis realizados al medio preparado.

[Hierro]después de la desferretización.	[Hierro]final esperado.	[Hierro]final obtenido.	Biocarga antes de la esterilización.	Biocarga después esterilización.
0,09 mg/L	6 mg/L	5,25 mg/L	400 UFC/mL	0 UFC/ mL (Medio estéril)

Pruebas de escalamiento con 3 volúmenes de inóculos (9, 12 y 15 ml) para la obtención del inóculo de producción:

en la sala de inoculación (006) se realizó la reactivación de la cepa de trabajo, el primer y segundo repique en medio tioglicolato. Del cultivo del segundo repique se tomaron muestras cada 4 horas para evaluar pH, absorbancia y biomasa. A partir de estas pruebas se determinó que se requieren jarras de anaerobiosis para realizar la curva de crecimiento del microorganismo en esta etapa, ya que las características del medio empleado no permitieron determinar la biomasa por medio del peso seco. Adicionalmente, se deben realizar las pruebas con volúmenes de inóculos mas pequeños (3, 5 y 6 mL), con el propósito de verificar cuál es el volumen mínimo que se puede utilizar para la obtención del inóculo de producción.

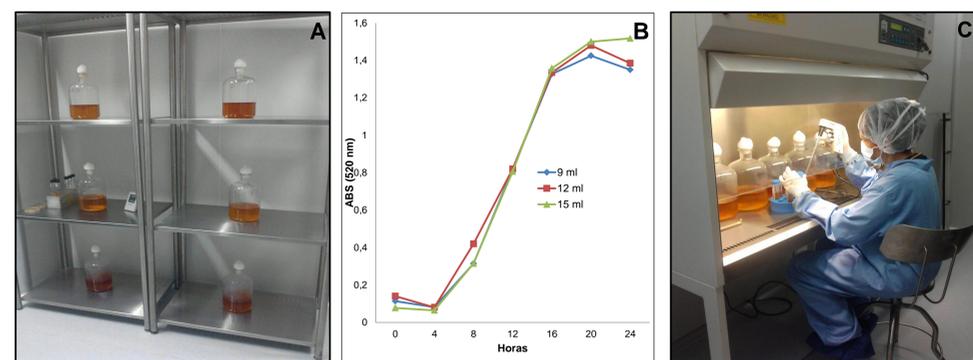


Figura 3.- (A) Incubación de los cultivos, (B) Absorbancia de los cultivos, (C) Toma de muestra al cultivo del segundo repique.

Estandarización de los parámetros de purificación: las pruebas se realizaron a partir de un lote experimental de Toxoide Tetánico mediante la precipitación con sulfato de amonio en tanque de procesos de 80 litros de capacidad. Se obtuvo un rendimiento de 78.6 %, una temperatura óptima de 22 ± 1°C) y se pudo evidenciar una serie de cambios y medidas correctivas que se deben aplicar al sistema de purificación.

Elaboración de los procedimientos de operación normalizados (PON): durante la ejecución de estas pruebas se evaluó la pertinencia de cuatro procedimientos de operación normalizados de procesos y los formularios involucrados. Además, permitieron que el grupo de trabajo elaborara cinco procedimientos relacionados con los procesos y trece con los equipos utilizados durante las pruebas ejecutadas.

Los resultados obtenidos durante las pruebas ejecutadas en el Área de Producción de Toxoide Tetánico han permitido asentar las bases para futuras pruebas y para lograr la estandarización de nuestros procesos a los cambios en la tecnología de producción, con miras a la producción de los lotes de consistencia.

Bibliografía:

- Gutiérrez S, Godoy R, Granados J, Poutou R. Comparación cinética y bioquímica de tres cepas de *Clostridium tetani*, para la producción de toxina tetánica. Universitas Scientiarum. 2008, 13 (2): pp. 109-117.
- Oladiran I, Meier D, Ojelade A, Olaolun D, Adeniran A, Tarpley J. Tetanus: Continuing Problem in the Developing World. World Journal of Surgery. 2002, 26: pp. 1282-1285.
- Demain A., Gerson D, Fang A. Effective levels of tetanus toxin can be made in a production medium totally lacking both animal (e.g., brain heart infusion) and dairy proteins or digests (e.g., casein hydrolysates). Vaccine. 2005, 23: pp.5420-5423.