

S4: PRODUCTOS BIOTECNOLÓGICOS Y VACUNAS.

ÍNDICE.

S4: PRODUCTOS BIOTECNOLÓGICOS Y VACUNAS..... 132

VACUNAS..... 135

THE CUBAN BIOTECHNOLOGY AND PHARMACEUTICAL INDUSTRY: IMPACT OF INNOVATIVE PRODUCTS ON NATIONAL PUBLIC HEALTH..... 135

DESARROLLO DE ANTAGONISTAS DE LA INTERLEUCINA-15 PARA EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES AUTOINMUNES. 136

OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE POLI (ÁCIDO LÁCTICO-G-ÁCIDO METACRÍLICO)(PLA-g-PMMA) PARA LA LIBERACIÓN CONTROLADA DE LA PROTEÍNA rhBMP2. 137

IMMUNE RESPONSE STIMULATED BY HER1 CO-ENCAPSULATED INTO LIPOSOMES WITH THE PORE-FORMING PROTEIN STICHOLYSIN II..... 138

STICHOLYSIN II ENCAPSULATED INTO LIPOSOMES: A VACCINE PLATFORM MEDIATING DENDRITIC CELL ACTIVATION AND CROSS-PRESENTATION..... 139

CONJUGADOS DE MENINGOCOCO C. 140

INCREMENTO DE LINFOCITOS CD4+ EN PACIENTES CON VIH-SIDA TRATADOS CON ANTIRRETROVIRALES Y BIOMODULINA T..... 141

DETERMINACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE CEPAS VACUNALES DE Salmonella spp..... 142

GENERATION AND CHARACTERIZATION OF A MONOCLONAL ANTIBODY SPECIFIC FOR HER3 EXTRACELLULAR DOMAIN. 143

FERMENTACIÓN Y PURIFICACIÓN..... 144

OPTIMIZACIÓN DEL BIOPROCESO PARA LA OBTENCIÓN DEL ANTÍGENO P26 RECOMBINANTE DEL VIRUS ANEMIA INFECCIOSA EQUINA. 144

DISEÑO DE UN PROCESO DE FERMENTACION PARA PRODUCIR EN E.coli UNA PROTEINA CON FINES TERAPEUTICOS..... 145

INFLUENCIA DEL MEDIO DE INÓCULO PARA LA OBTENCIÓN DE UNA PROTEÍNA RECOMBINANTE PARA USO TERAPÉUTICO..... 146

ESTABLECIMIENTO DE UN PROCESO DE FERMENTACIÓN A ESCALA DE BANCO PARA LA OBTENCIÓN DEL CANDIDATO ANTITUMORAL CIGB 370. 147

ESTABLECIMIENTO DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN A ESCALA DE LABORATORIO DE LAS PROTEÍNAS DE DENGUE DIII-C1, DIII-C3 y DIII-C4..... 148

=====

CARACTERIZACIÓN POR ESPECTROMETRÍA DE MASA DE LA PROTEÍNA rRv2626c DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS EXPRESADA EN STREPTOMYCES LIVIDANS.	166
CERTIFICACIÓN NACIONAL DEL MATERIAL DE REFERENCIA PARA LA VACUNA RECOMBIANTE CONTRA LA HEPATITIS B.	167
MATERIALES DE REFERENCIA DE EGFhr: SU IDONEIDAD PARA EL CONTROL DE LA CALIDAD DEL HEBERPROT-P.	168
ESTUDIO DE ESTABILIDAD DE FACTOR DE CRECIMIENTO EPIDÉRMICO HUMANO RECOMBINANTE COMO INGREDIENTE FARMACÉUTICO ACTIVO DEL HEBERPROT-P.	169
ESTABILIDAD DE VIRUS MENGO EN EL TIEMPO.	170
RIESGO BIOLÓGICO, AMBIENTAL Y ECONÓMICO DEL MANEJO DE Staphylococcus aureus ATCC 6538 EN LIORAD+	171

DESARROLLO DE ANTAGONISTAS DE LA INTERLEUCINA-15 PARA EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES AUTOINMUNES.

Yunier Rodríguez-Álvarez^{1*}, Haydee Gerónimo-Pérez¹, Jorge Castro-Velazco¹, Rafael Martínez-Castillo¹, Pedro Puente-Pérez¹, Hilda Garay-Pérez¹. ¹Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB), La Habana. Cuba. *Dirección de correo: yunier.rodriquez@cigb.edu.cu.

La Interleucina-15 (IL-15) es una citocina proinflamatoria propuesta como un blanco terapéutico en diversas enfermedades autoinmunes. Nuestro proyecto desarrolla 2 estrategias para inhibir la actividad de la IL-15: una vacuna terapéutica basada en la inmunización activa con la IL-15 humana modificada estructuralmente (IL-15hm) y el desarrollo de un péptido antagonista que se une a la subunidad α del receptor de la IL-15 (IL-15R α) denominado CIGB55. Se inmunizaron monos *Macaca fascicularis* con 200 μ g de la IL-15hm en adyuvante Alúmina, Montanide e Incompleto de Freund, en 3 inmunizaciones espaciadas por 15 días. Los títulos de anticuerpos anti-IL-15 se evaluaron mediante ELISA y la actividad neutralizante de los sueros se determinó en el ensayo de proliferación en CTLL-2. Mediante la estrategia de barrido de alanina se estudió la contribución de cada aminoácido al efecto antagonista del CIGB55. La inmunización con la IL-15hm genera una respuesta regulada de anticuerpos anti-IL-15, obteniéndose la mayor respuesta neutralizante en el grupo Alúmina. Los anticuerpos anti-IL-15hm inhiben la actividad biológica de la IL-15 de simio y no afectan la proliferación inducida por IL-2. La vacunación no afectó el comportamiento animal, estado clínico, bioquímica sanguínea, ni el número de poblaciones celulares dependientes de IL-15. Se encontró que la Phe y la Cys son residuos importantes en la unión del péptido a la IL-15R α . A través de otras mutaciones simples se identificó un péptido más activo que el CIGB55, con una IC₅₀ de 24 μ M. Las estrategias presentadas en este trabajo podrían ser útiles en el tratamiento de enfermedades autoinmunes relacionadas con la sobreexpresión de IL-15.

OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE POLI (ÁCIDO LÁCTICO-G-ÁCIDO METACRÍLICO)(PLA-g-PMMA) PARA LA LIBERACIÓN CONTROLADA DE LA PROTEÍNA rhBMP2.

Diana Daniel Pérez, Edson Rodrigo Fernandes dos Santos, Fernando Gomez de Souza Jr. Instituto de Macromoléculas, UFRJ; Av. Horácio Macedo, 2030, Rio de Janeiro - RJ; Brazil; 21941-598. Email: dianadp90@gmail.com

En los últimos años, los polímeros han sido utilizados cada vez más como soporte y vehículo para la liberación controlada de sustancias activas, brindando ventajas relacionadas con la estabilidad y la biodisponibilidad. A pesar de que existe una grande variedad de polímeros usados con esta finalidad, los poliésteres no aromáticos como el poli(ácido láctico) (PLA) son ampliamente estudiados debido a ser altamente biocompatible, biodegradable e atóxicos al organismo. En este trabajo se sintetiza un copolimero de PLA-g-PMMA que será usado como una alternativa para disminuir la velocidad de liberación, una vez que es capaz de hacer fuertes interacciones con la proteína y se evalúa su utilidad en la obtención de nanopartículas para la liberación controlada de rhBMP2. . El polímero se sintetizo por policondensación y se caracterizó por Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (1H-RMN). Las nanopartículas fueron obtenidas por el método de doble emulsión / evaporación del solvente. El análisis morfológico reveló microesferas homogéneas caracterizadas por un diámetro medio menor de 10 µm. El tamaño de las partículas dependió de algunos factores experimentales como la velocidad de agitación y la concentración de la solución polimérica. La Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FT-IR) mostró que la proteína fue incorporada en las partículas.

STICHOLYSIN II ENCAPSULATED INTO LIPOSOMES: A VACCINE PLATFORM MEDIATING DENDRITIC CELL ACTIVATION AND CROSS-PRESENTATION.

Rady J. Laborde¹, Audry Fernández², María C. Luzardo ¹, Yoelys Cruz¹, Liliana Oliver², Circe Mesa², et al. ¹Center for Protein Studies, Havana University, Havana, Cuba; ²Center for Molecular Immunology, Havana, Cuba; ³Department of Microbiology, Immunology and Parasitology, UNIFESP, Sao Paulo, Brazil; ⁴HMS, Harvard University, Boston, MA, USA.

radylq@fbio.uh.cu, mlanio@fbio.uh.cu

Vaccines addressed to enhance cytotoxic CD8⁺ T lymphocytes (CTL)-mediated responses remain a current challenge. In this work, we studied the ability of Sticholysin II (StII), a pore-forming protein from the anemone *Stichodactyla helianthus* encapsulated into liposomes, for enhancing an ovalbumin (OVA)-specific CTL-mediated immune response. Dendritic cells (DCs) pulsed with OVA plus StII and exposed to OVA-specific CD8⁺ T-lymphocytes from OT-1 mice activated these cells suggesting cytosolic delivery of antigen to antigen-presenting cells. Mice adoptively transferred with OT-1 CD8⁺ T-cells were immunized with OVA-containing liposomes co-encapsulating or not StII (Lp/OVA/StII and Lp/OVA, respectively). Lp/OVA/StII induced an OVA-specific CD8⁺ T-cell expansion significantly superior to that observed with Lp/OVA, and a higher percentage of the memory CD8⁺ T-cells (CD62L^{lo}CD44^{hi}). Immunization with Lp/OVA/StII enhanced an OVA-specific CTL response and conferred a higher protection to mice challenged with OVA-expressing tumor cells in comparison with Lp/OVA. Besides, CTL activity induced by Lp/OVA/StII was independent of CD4⁺ T-cells, while anti-tumor response was strongly affected by CD8⁺ T-cells depletion. Lp/OVA/StII vaccination was also more effective than Lp/OVA in tumor-bearing mice. In addition, StII induced DCs activation that was abrogated in DCs from TLR4 and MyD88 knockout mice. Interestingly, the CTL response induced by Lp/OVA/StII was significantly reduced in TLR4 knockout mice. Our results support the use of StII-liposomes as vaccine platform for enhancing CTL responses.

CONJUGADOS DE MENINGOCOCO C.

Autores: Claudia Ofelia Acosta Grogues^{1*}, Mabel Hernández Cedeño¹, Majela González Miró¹, Yisabel Aranguren Mazorra¹, Caridad Zayas Vignier¹, Reinaldo Acevedo Grogues¹. *e-mail: coacosta@finlay.edu.cu. ¹Instituto Finlay de Vacunas, Ave. 27 No. 19805, La Lisa. La Habana, AP. 16017, CP11600. Cuba.

Introducción: La enfermedad meningocócica continúa siendo una de las principales causas de morbimortalidad en el mundo. El serogrupo C de *Neisseria meningitidis* (NmC) es uno de los más frecuentes, teniendo su mayor incidencia en Europa y América. Dos estrategias vacunales principales han sido desarrolladas, las vacunas polisacáridicas conjugadas y sin conjugar. Las vacunas conjugadas son más inmunogénicas, inducen respuesta inmune en lactantes, memoria e inmunidad de grupo. Sin embargo son más caras y menos asequibles para los países pobres. El Instituto Finlay de Vacunas tiene como meta desarrollar vacunas conjugadas asequibles contra *N. meningitidis*. El objetivo de este trabajo es evaluar conjugados de polisacárido C utilizando como moléculas portadoras el toxoide diftérico (TD) o tetánico (TT). **Materiales y Métodos:** Las evaluaciones de inmunogenicidad se llevaron a cabo en ratones BALB/c y se compararon los dos candidatos con respecto a su capacidad de inducir anticuerpos de clase IgG y subclases IgG1/IgG2a. Además, se evaluó la avidéz de estos anticuerpos y se midió su funcionalidad mediante actividad bactericida del suero. **Resultados:** El estudio de inmunogenicidad de los conjugados de polisacárido C demostró que ambos conjugados eran tan inmunogénicos como la vacuna multivalente comercial Menveo® pero el conjugado a TT fue más inmunogénico que el conjugado a TD o la vacuna comercial. **Conclusiones:** Los conjugados de NmC fueron inmunogénicos y están listos para la siguiente etapa de desarrollo. La selección de la molécula portadora estará sujeta a diferentes aspectos como reactogenicidad, interferencias inmunológicas con otras vacunas locales, rendimientos de conjugación a mayor escala y disponibilidad de la molécula portadora.

INCREMENTO DE LINFOCITOS CD4+ EN PACIENTES CON VIH-SIDA TRATADOS CON ANTIRRETROVIRALES Y BIOMODULINA T.

Lic. Rodríguez Chávez Suset¹, Dra C. Aznar García Elisa¹, MSc. Suárez Fundora Sidelsi¹, Dra. Pérez Isadis², Lic. Fernández Ofelia², Lic. Pérez Carlos², Ing. Alcántara Pedro³, Tec. Díaz Barroso Yamilet¹.

¹: Centro Nacional de Biopreparados. BIOCEN. Bejucal, Mayabeque, Cuba. ²: Policlínico Docente "Rosa Elena Simeón Negrín". Bejucal, Mayabeque, Cuba. ³: Instituto de Investigaciones Hortícolas Liliana Dimitrova. Bejucal, Mayabeque, Cuba. Correo: suset.rdquez@biocen.cu

Las infecciones de transmisión sexual (ITS) constituyen un problema de salud mundial. Algunas ITS son curables sin embargo en la infección por VIH/sida es posible eliminar los síntomas que produce, pero el agente etiológico perdura en el organismo y pasado un tiempo deteriora la salud de quien la padece. El uso de terapias antirretrovirales mejora la supervivencia, sin embargo, la aplicación de sustancias inmunomoduladoras puede potencializar la acción restauradora y mejorar la calidad de vida de esos pacientes. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto inmunomodulador de la Biomodulina T[®] como terapia complementaria a los antirretrovirales en pacientes con VIH-sida. Se realizó un estudio prospectivo, abierto, aleatorizado. Se evaluaron 32 pacientes con VIH-sida atendidos en el Policlínico Docente "Rosa Elena Simeón Negrín" de Bejucal, Mayabeque. Fueron estudiados 18 pacientes que recibieron tratamiento con Biomodulina T y retrovirales y 14 pacientes como grupo control. Las evaluaciones clínicas hematológicas se realizaron cuantificando los linfocitos CD4+ y carga viral, además de análisis complementarios. Los indicadores se evaluaron antes, a los 6 y 12 meses después de iniciado el tratamiento. La dosis empleada fue 1bbo (3mg de fracción tímica) 3 veces por semana durante 4 semanas, descansar 1 mes y posteriormente 1bbo 2 veces por semana durante 4 semanas. Como resultado, se observó un incremento significativo de los CD4+ ($p < 0.05$) en el grupo de pacientes que recibió tratamiento con Biomodulina T en comparación al control.

DETERMINACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE CEPAS VACUNALES DE *Salmonella* spp.

Ariadna Rodríguez Pérez¹; Adalberto Águila Sánchez²; Susel Blanco Abreu². ¹Empresa Productora de Vacunas Virales y Bacterianas, Grupo Empresarial de Laboratorios Biológicos y Farmacéuticos (LABIOFAM), Ave. Independencia, Km, 16 ½, Boyeros, La Habana, Cuba. ²Instituto de Investigaciones en Medicina Tropical “Pedro Kouri”, Autopista Novia del Mediodía, Km 6 ½, La Habana, Cuba. Email: rey.rdguez@infomed.sld.cu

Introducción: Los serotipos de *Salmonella* han sido extensamente incriminados como los agentes patógenos zoonóticos más importantes en varios países en el mundo y son responsables de la significativa mortalidad y morbilidad tanto en humanos como en animales. Los productos como amoxicilinas, tetraciclinas y fluoroquinolonas podrían ser efectivos para el tratamiento de este microorganismo, aunque no son capaces de eliminar la infección por completo. El objetivo de la presente investigación es determinar la susceptibilidad de tres cepas vacunales de *Salmonella* (*Salmonella cholerae-suis*, *Salmonella typhimurium* y *Salmonella oritamerin*) frente a un panel de antimicrobianos por el método de Bauer-Kirby. **Materiales y Métodos:** Todas las cepas bacterianas utilizadas procedieron del Departamento de cepas de la Empresa Productora de Vacunas Virales y Bacterianas, LABIOFAM, las cuales se encontraban liofilizadas a 2°C. Para la realización de esta prueba se utilizó el método de difusión en disco (*Bauer-Kirby*) de acuerdo con las recomendaciones del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) del 2016, empleándose nueve drogas antimicrobianas recomendadas por el CLSI para la familia *Enterobacteriaceae*. **Resultados y Discusión:** Se demostró que las tres cepas de *Salmonella* investigadas poseen una resistencia total frente a ampicilina y tetraciclina, aunque exhiben una menor resistencia al resto de los antibióticos exceptuando al cloranfenicol para el cual todas las cepas resultaron susceptibles. **Conclusiones:** Las cepas poseen resistencia elevada frente a los antimicrobianos más utilizados en las terapias preventivas

GENERATION AND CHARACTERIZATION OF A MONOCLONAL ANTIBODY SPECIFIC FOR HER3 EXTRACELLULAR DOMAIN.

Diana Rosa Hernández Fernández. Tumor Immunology Direction, Center of Molecular Immunology, Havana, Cuba. dianar@im.sld.cu.

Background: Epidermal growth factor receptor 3 (HER3/ERBB3) is a member of the human epidermal growth factor receptor family. This receptor lack intrinsic kinase activity and hence its activation depends on heterodimerization with other receptor of the family. HER3 is an attractive cancer target due to its role in activation of the oncogenic PI3K/AKT pathway, its expression in several epithelial tumors and its overexpression as a drug resistant mechanism to HER1- and HER2-targeting therapies. Therefore, our group is developing a vaccine candidate based on the extracellular domain (ECD) of HER3. The present work was aimed at generating a monoclonal antibody (mAb) specific for HER3-ECD as a tool to evaluate the immune response induced by HER3-based vaccine.

Methods: Anti-HER3 mAb-secreting hybridoma was generated by polyethylene glycol fusion of splenocytes from HER3-immunized BALB/c mice with a myeloma cell line. The mAb was purified by immunoaffinity and its specificity was assessed by different techniques.

Results: The C7D9 mAb showed a dose-dependent reactivity to HER3-ECD by ELISA and Western blot. The HER3 recognition was highly specific because no cross-reactivity was detected against HER1 and HER2. This mAb was also capable of recognize the receptor in soluble form as was demonstrated by HER3-ECD immunoprecipitation using C7D9 mAb followed by SDS-PAGE. Finally in a flow cytometry experiment, C7D9 mAb recognized HER3 expressed in cell surface, discriminating between cell lines with high, low or absent expression of this receptor.

Conclusions: C7D9 mAb is a potential tool with application in the design of HER3-based therapies due to its specific recognition of this receptor by different techniques.

FERMENTACIÓN Y PURIFICACIÓN.

OPTIMIZACIÓN DEL BIOPROCESO PARA LA OBTENCIÓN DEL ANTÍGENO P26 RECOMBINANTE DEL VIRUS ANEMIA INFECCIOSA EQUINA.

María Carla Rodríguez Domínguez¹, Mario Pablo Estrada García², Angela E. Sosa Espinosa², Annia A. González Crespo², Leonardo Vázquez Fría². 1. Grupo Empresarial Laboratorios Biológicos Farmacéuticos (LABIOFAM). Empresa Productora de Vacunas Virales y Bacterianas. Departamento de Investigación y Desarrollo. La Habana, Cuba. mariacarlar@nauta.cu. 2. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB). Jefe de la División de Investigaciones Agropecuaria (IAP). La Habana, Cuba.

La obtención de la proteína p26 por vía recombinante (p26r) garantiza una fuente segura de antígeno para el desarrollo de medios para el diagnóstico de la anemia infecciosa equina. El objetivo de nuestro trabajo fue establecer las condiciones óptimas para la expresión y purificación del antígeno empleando la cepa de *Escherichia coli* BL21 (DE3), transformada con el plásmido pET28-p26r. En este estudio se estableció un sistema de lote semilla para garantizar la estabilidad del banco maestro. Para el control de calidad del banco se determinó la viabilidad, la pureza microbiana, la ausencia de bacteriófagos, la construcción por análisis de restricción enzimática y la secuencia nucleotídica del gen. Para establecer las condiciones óptimas de crecimiento las fermentaciones se realizaron en un fermentador Biostat B Plus, en el que se utilizó 2L de medio de cultivo LB de autoinducción con lactosa. La optimización de las etapas de purificación de p26r, mediante cromatografía de afinidad por quelatos metálicos, permitió alcanzar una pureza superior al 87%. Para el control de la calidad de la proteína purificada se estudió la secuencia aminoacídica por espectrometría de masas, empleando el programa de identificación por homología MSBlast y la actividad biológica mediante el reconocimiento inmunológico por Inmunodifusión en gel agar y Western Blotting. Este estudio permitió establecer condiciones óptimas para cada etapa del bioproceso y especificaciones de calidad para la obtención del antígeno p26r.

DISEÑO DE UN PROCESO DE FERMENTACION PARA PRODUCIR EN E.coli UNA PROTEINA CON FINES TERAPEUTICOS.

Mariela Pérez de la Iglesia¹, Marlen Herrera León, Yenisel Hernández Sales, Sheila Padrón Morales y Julio César Dustet Mendoza. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología. Ave 31 /158 y 190, Cubanacan, Playa. PO Box 10600, Cuba. Phone: (53-7) 271 6022 Ext: 5250. ¹e-mail: mariela.perez@cigb.edu.cu.

Introducción: Los procesos de fermentación de *E. coli* han sido ampliamente investigados, sin embargo es reconocido que cada par cepa hospedera / proteína de interés constituye un caso particular a ser estudiado. En este trabajo se hace un mejoramiento de los inóculos de una fermentación para expresar una proteína recombinante bajo el control del promotor triptófano. Materiales y métodos: El microorganismo usado fue la *E.coli* BL21. Las células fueron cultivadas en zaranda, en erlenmeyers de 250 mL y en fermentadores de 5 litros. La densidad celular se midió en espectrofotómetro a 620 nm y los niveles de expresión en electroforesis SDS-PAGE mediante cuantificación de las bandas a través del software *ImageJ*. Todo el procesamiento estadístico se realizó utilizando el programa *Statgraphics Centurion*. Resultados: El estudio del tiempo y la temperatura de cultivo, la adición de un represor, el volumen de medio de cultivo y el volumen del banco de células de trabajo permitió aumentar el crecimiento celular y reprimir la expresión de la proteína recombinante en los inóculos. Un posterior estudio del proceso de fermentación utilizando el inóculo mejorado mostró un aumento de la productividad tanto por el aumento de la expresión de la proteína de interés como por la reducción del tiempo de cultivo. Conclusiones: Los resultados experimentales demostraron que para este proceso de fermentación es posible reprimir totalmente la expresión de la proteína recombinante en los inóculos y aumentar la densidad celular, lo que influye significativamente en la productividad del proceso de fermentación posterior en fermentadores de 5 litros.

ESTABLECIMIENTO DE UN PROCESO DE FERMENTACIÓN A ESCALA DE BANCO PARA LA OBTENCIÓN DEL CANDIDATO ANTITUMORAL CIGB 370.

Regla Mildrey Bonilla Hernández¹, Rosalí Avila Hernández¹, Victoria María Lugo¹ Hernández, Ana Gloria Gutierrez Llanes¹. ¹ Dirección de Desarrollo Tecnológico. E-mail:regla.mildrey@cigb.edu.cu. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología. Ave 31 e/158 and 190, P.O Box 6162, Habana 10600, Cuba.

El cáncer se ha convertido en una de las principales causas de muerte a nivel mundial y la primera en Cuba, por esta razón se ha incrementado el interés por obtener fármacos con efecto antitumoral. En el Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB) se ha obtenido el polipéptido CIGB 370r, que presenta amplio espectro de acción y selectividad sobre células tumorales. En la Dirección de Desarrollo Tecnológico del CIGB se tiene desarrollado un proceso fermentativo para la obtención de este candidato antitumoral, capaz de garantizar las cantidades necesarias de producto con la calidad requerida para su uso inyectable en seres humanos. Este trabajo tiene como objetivo realizar mejoras al proceso de fermentación para incrementar los niveles de expresión y el cumplimiento de los estándares regulatorios. Se establecieron condiciones favorables a escala de banco para el crecimiento y la expresión de la proteína heteróloga mediante un diseño experimental de superficie de respuesta con la aplicación del programa estadístico Statgraphics centurión XV. Los mejores resultados alcanzados fueron 7,85 unidades de densidad óptica y 11% de expresión de la proteína de interés empleando parámetros de fermentación de 37°C, 700 rpm, pH 6 en 18h de cultivos.

ESTABLECIMIENTO DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN A ESCALA DE LABORATORIO DE LAS PROTEÍNAS DE DENGUE DIII-C1, DIII-C3 y DIII-C4.

Saily Martínez Gómez, Jorge Valdés Hernández, Raúl R. Espinosa Pérez, Odalys Ruiz Hernández, Yusleydis de la C. Pérez Fuentes. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, La Habana, Cuba.

Saily.martinez@cigb.edu.cu.

El proyecto Vacuna Dengue del Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, desarrolla una línea de investigación encaminada a la obtención de una vacuna profiláctica contra el virus dengue, basada en cuatro proteínas recombinantes que contienen la región de la cápsida del virus y un fragmento de la envoltura (Dom III), capaces de inducir una respuesta inmune protectora contra los cuatro serotipos virales.

Estas proteínas se expresan en la cepa BL21DE3 de *Escherichia coli* a escala de laboratorio empleando medio complejo con el uso de IPTG como agente inductor. Sin embargo, el rendimiento de la expresión en estas condiciones fue bajo incluso para obtenerla a escala de laboratorio por lo que se emplea una plataforma de trabajo para la de expresión de proteínas recombinantes utilizando medios químicamente definidos suplementados con aminoácidos capaces de inducir la expresión de la proteína de interés y por lo general logrando obtener cultivos con altas densidades celulares.

En el mismo se comienza por un estudio a escala de zaranda de un medio químicamente definido donde se alcanza un crecimiento celular de 6 uDO y 10% de expresión de los serotipos estudiados. En esta misma escala fueron evaluados los 20 aminoácidos que forman las proteínas. De estos Arginina, Metionina y Treonina resultaron significativos para el incremento de la expresión de DIII-C1 y Alanina, Glutamina y Prolina para DIII-C4. Para DIII-C3 no resultó significativo el empleo de aminoácidos en el incremento de la expresión.

MEJORAMIENTO DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN DE LA ESTREPTOQUINASA RECOMBINANTE EN ESCHERICHIA COLI.

Autores: Victoria Ma. Lugo Hernández, Laura Varas Sarzo, Regla M. Bonilla Hernández, Analeydis García Labaceno, Marlen Herrera León, Hendrich Aguirre Cruz. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología. La Habana. Cuba. victoria.lugo@cigb.edu.cu.

En los últimos años en Cuba se han estado obteniendo resultados favorables en estudios clínicos con el empleo de la **Proctoquinasa**, un supositorio para el tratamiento hemorroidal donde el principio activo es la Estreptoquinasa (SKr), lo cual permitió que se obtuviera el Registro Sanitario por la autoridad regulatoria cubana Centro para el Control Estatal de Medicamentos y Dispositivos Médicos (CECMED). Actualmente es en el BIOCEN donde se produce SKr mediante un proceso de cultivo incrementado con un volumen de fermentación de 150 L que alcanza una concentración celular de 20-25 g/L y una expresión de 15-20%. Esta nueva aplicación de la SKr impuso la necesidad de contar con un proceso tecnológico que cumpla con los requerimientos regulatorios y aumente la concentración celular. Este trabajo tiene como objetivo mejorar el proceso de fermentación de la SKr en *E. coli* para obtener mayor concentración de la proteína de interés. Para esto se implementó un medio de cultivo químicamente definido en el que la concentración de la fuente de carbono, relación glicerol-glucosa, la fortaleza de los aminoácidos, la velocidad de crecimiento en el incremento y el pH fueron los factores en el diseño experimental empleado. Para la selección de la variante más adecuada se utilizó el software Statgraphics Centurión XVI. Se obtuvieron los mejores resultados en la corrida 4 donde la conjugación de esos parámetros permitió obtener valores de concentración celular ≥ 60 g/L y una expresión de 14,5%. Los resultados obtenidos permiten pasar a realizar un estudio de optimización de estas variables.

MEJORAMIENTO DE LA PRODUCTIVIDAD DEL PROCESO DE PRODUCCIÓN DE LA ESTREPTOQUINASA RECOMBINANTE MEDIANTE MODIFICACIONES GENÉTICAS.

Diamilé González Roche, Analeydis García Labaceno, Marlén Herrera León, Victoria María Lugo Hernández, Alina Yelina Ricardo de la Fé, Jorge Valdés Hernández. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, La Habana, Cuba. diamile.gonzalez@cigb.edu.cu.

INTRODUCCIÓN: El proceso productivo de la Estreptoquinasa recombinante (SKr) del CIGB se basa en el empleo del hospedero *Escherichia coli* modificado con un plasmidio recombinante. Debido a la alta demanda del producto y al aumento del rigor de las exigencias impuestas por las agencias regulatorias de biofármacos, fue necesario elevar la productividad del proceso e inactivar el gen *bla*. Nuestros **objetivos** fueron: 1- Cambiar el marcador de selección e introducir otras transformaciones genéticas en el vector y 2- Evaluar la funcionalidad del nuevo plasmidio recombinante. **MATERIALES Y MÉTODOS:** Para elevar el nivel de expresión de la proteína se modificaron, mediante mutagénesis por PCR, las secuencias de la señal de terminación traduccional y del RBS (contiguas a los extremos del gen *skc-2*). Además, se sustituyó el gen *bla* por el *Tn903*, generándose el vector pEKOpK. Con este se transformó la cepa de *Escherichia coli* BL21 (DE3) y se realizaron ensayos de expresión en zaranda. **RESULTADOS:** Los estudios arrojaron porcentajes de expresión de SKr de 30 a 40% respecto a la proteína total del hospedero, el doble de los que resultan del sistema actual. La productividad promedio obtenida fue de aproximadamente 115 mg de SKr/Lh, mayor a la del proceso en explotación (38 mg de SKr/Lh). **CONCLUSIÓN:** Se desarrolló un sistema **vector - cepa - condiciones de cultivo** con el que se consigue una productividad superior a la correspondiente al actual proceso de producción de SKr, y que cumple con los estándares regulatorios respecto al no empleo de antibióticos β -lactámicos.

ESCALADO DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN DE LA PROTEÍNA ESTREPTOQUINASA RECOMBINANTE EN MEDIO QUÍMICAMENTE DEFINIDO.

Analeydis García Labaceno, Marlen Herrera León, Laura Varas Sarzo, Victoria María Lugo Hernández, Raúl Rafael Espinosa Pérez, Alina Yelina Ricardo de la Fe. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, La Habana, Cuba. analeydis.garcia@cigb.edu.cu.

En el año 1989 se iniciaron los estudios en el CIGB para la producción de Estreptoquinasa por métodos recombinantes. Se trazaron diferentes líneas de trabajo encaminadas a favorecer el proceso de producción elevando los valores de crecimiento celular y expresión de la proteína de interés, estableciéndose nuevas condiciones en el proceso fermentación. En aras de verificar los resultados en una escala superior, se trazó como objetivo realizar el escalado a 70 L del nuevo proceso de fermentación de la Estreptoquinasa recombinante (SKr) en Medio Químicamente Definido (MQD). El sistema de expresión desarrollado está basado en la cepa BL21 (DE3), empleando la bacteria *Escherichia coli*. Los criterios de escalado utilizados fueron P/V constante y Na constante. Se realizaron diferentes métodos analíticos: densidad óptica, electroforesis en gel de poliacrilamida y densitometría. En el escalado se obtuvo un valor de flujo de aire muy bajo, procediendo a utilizar uno superior por estudios precedentes. Con este valor y la agitación obtenida, manteniendo los otros parámetros de operación, los resultados de crecimiento celular y expresión de la proteína de interés fueron similares a los de 7 L. Por lo que se demostró el escalado en 70 L del nuevo proceso de fermentación de SKr en MQD alcanzando un crecimiento celular de $30,15 \pm 2,62$ UDO y $23 \pm 4,04$ % de expresión. Quedaron definidos como parámetros de operación: temperatura 37°C, pH 7, flujo de aire 40 L/min, agitación al inicio 338 rpm y en el incremento 395 rpm, flujo de bomba 14,8 mL/min.

MEJORAS DEL PROCESO DE PURIFICACION DE INTERFERON GAMMA H-R EMPLEANDO UNA NUEVA CEPA DE E.COLI.

Ana Ibis Paz Li, Gabriel Marquez Perera, Lazara Muñoz Hernández, Patricia Montero Montero.

El Interferón gamma es una citosina de 143 aa utilizado como agente terapéutico para eliminar o reducir los tumores de piel no melanomas y puede evitar secuelas de cirugías en zonas como la cara. En un desarrollo previo el INF gamma se produce mediante un proceso de purificación que consta de una semipurificación y tres etapas cromatográficas que logra obtener un ingrediente farmacéutico activo (IFA) con rendimientos de 1 mg de proteína/ g de biomasa y actividad específica alrededor de $0,7 \times 10^7$ UI/mg. En el presente trabajo, a partir de una nueva construcción y otra cepa de E.coli, se describe una metodología de purificación modificando la etapa de semipurificación para una disminución del tiempo de operación del proceso. Este método produce más del 96 % de pureza de la molécula, con rendimientos de 13,5 mg de proteína/ g de biomasa, trece veces mayores al proceso previamente establecido y con una actividad específica de 2×10^7 UI/mg.

APROXIMACIÓN AL ESTUDIO DE HIDROXIAPATITA HA-Biomat COMO MATRIZ CROMATOGRÁFICA EN LA PURIFICACIÓN DE PROTEÍNAS RECOMBINANTES.

Lismary Avila Díaz¹, Eduardo Peón Avés², Gustavo González Ruiz³. ¹ Licenciada; Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, La Habana, Cuba; lismary.avila@cigb.edu.cu, (+53) 7261 6022, ext: 7216. ² Doctor, Investigador Auxiliar; Centro de Biomateriales, Universidad de La Habana, La Habana, Cuba. ³ Master en Ciencias; Dirección de EPOVAC, Centro de Inmunología Molecular, La Habana, Cuba.

La hidroxiapatita es un fosfato de calcio ampliamente utilizado como matriz cromatográfica en la purificación de proteínas, por sus características estructurales. En el Centro de Biomateriales de la Universidad de La Habana se sintetiza hidroxiapatita como sustituto de tejido óseo, dicha hidroxiapatita posee características químico-físicas similares, que aquellas empleadas a nivel internacional con fines cromatográficos; por lo que este trabajo se trazó como objetivo evaluarla en diferentes variantes: HA-Biomat verde y HA-Biomat sinterizada a temperaturas de 400, 700 y 1200°C. Inicialmente se realizaron ensayos con sobrenadante de HA-Biomat verde, que permitieron establecer las condiciones de pH y conductividad que favorecen la adsorción de la proteína. Posteriormente se determinaron las cualidades de empaque para las HA-Biomat preparadas, donde la HA-Biomat 700 presentó una velocidad lineal máxima de 43.5 cm/h y la HA-Biomat 1200 se destacó con 222 cm/h; sugiriéndose ambas para su utilización como matriz cromatográfica; descartándose la verde y la HA-Biomat 400 por tener valores más bajos. La capacidad dinámica de HA-Biomat 1200, conllevó a su eliminación del proceso de análisis por los bajos valores presentados; destacándose HA-Biomat 700 con una carga máxima de adsorción de 34.3 mg/mL para IFA 1E10. El desempeño alcanzado para HA-Biomat 700, con el empleo de IFA 1E10 como proteína recombinante, superó las expectativas evaluándose en el paso intermedio de purificación. En el presente trabajo se muestran los resultados de la obtención y caracterización de una hidroxiapatita cromatográfica, así como algunas experiencias de su estudio para la purificación de eritropoyetina y de un anticuerpo monoclonal.

EFECTO DE LOS PARÁMETROS DE CORRIDA CROMATOGRÁFICOS EN LA SEPARACIÓN DE LAS ESPECIES CONJUGADAS DE LA VACUNA CIMAvax-EGF®.

Autores: Yisel Quintana Tamayo¹, Dianelis de la Caridad Reina Peramo², Danais Vidal Rosell¹, Gustavo Gonzalez Ruiz¹, Vladimir Peña Sánchez¹. ¹*Centro de Inmunología Molecular, La Habana, Cuba.* ²*Instituto Finlay de Vacunas, La Habana, Cuba.* Dirección electrónica del ponente: yiselq@cim.sld.cu.

Introducción. Varios estudios de caracterización estructural mediante espectrometría de masas demostraron que el antígeno de la vacuna CIMAvax-EGF® está compuesto por 13 especies moleculares. Sin embargo, no se ha logrado la separación y cuantificación de cada una de estas especies. En este trabajo se evaluó el efecto de varios parámetros que influyen en la cromatografía líquida de alta resolución por fase reversa (HPLC-FR) para lograr una correcta separación de las especies moleculares.

Materiales y Métodos. Se empleó el método para la determinación de pureza de la materia prima de rhEGF mediante HPLC-FR y se modificaron los factores gradiente, columna cromatográfica, concentración del apareador/supresor de iones en las fases móviles, así como el aumento de la temperatura del horno. Antes de probar un aumento en la temperatura del horno se evaluó la termoestabilidad de las muestras empleadas sometiénolas a diferentes temperaturas. Para evaluar el efecto provocado por este estrés se determinó la pureza de las muestras tratadas.

Resultados. Las muestras sometidas a altas temperaturas no se afectaron estructuralmente. El método cromatográfico escogido permitió la separación de los picos de rhEGF libre que no se conjugaron durante el proceso productivo. La modificación de los parámetros de corrida evaluados no mostró cambios significativos en el perfil obtenido, ya que ninguno influyó en la resolución del pico correspondiente a las especies conjugadas. En base a las características estructurales de las proteínas que conforman el antígeno de la vacuna CIMAvax-EGF® han de diseñarse métodos que permitan la separación de sus especies moleculares.

CALDO SELENITO CISTINA PARA EL ENRIQUECIMIENTO DE SALMONELLA, DESARROLLADO EN EL CENTRO NACIONAL DE BIOPREPARADOS.

Yudisleidy López Ricardo, Raisa Zhurbenko, Claudio Rodríguez Martínez. Centro Nacional de Biopreparados (BioCen), Bejucal, Mayabeque, Cuba. yudisleidy.lopez@biocen.cu.

Salmonella spp. es el agente causal de numerosas enfermedades en el hombre y su principal vía de transmisión es a través de los alimentos. El Caldo Selenito Cistina es un medio de enriquecimiento selectivo utilizado para la recuperación e identificación de especies de *Salmonella* en muestras de alimentos, aguas y heces. El objetivo fue desarrollar el medio Caldo Selenito Cistina e introducirlo a la industria en el Centro Nacional de Biopreparados. Se realizó un estudio comparativo con diferentes bases nutritivas, que evaluó la promoción de crecimiento bacteriano ante cinco cepas de *Salmonella*. Se comparó el comportamiento del medio experimental con uno de referencia de la firma Merck (Alemania) frente a *Salmonella* Typhimurium como microorganismo diana y *Escherichia coli* no diana. Se elaboró, un lote a pequeña escala (500 g) y tres lotes a escala industrial (3 kg) en forma deshidratada, evaluando los parámetros de calidad organolépticos, fisicoquímicos y microbiológicos. Se obtuvo mejor crecimiento de las cepas probadas con la mezcla de bases nutritivas, por lo que esta se definió como la base a emplear en la formulación del medio. El medio experimental mostró una recuperación satisfactoria de *Salmonella*, similar al de referencia e inhibió *E. coli* a bajas concentraciones mejor que el de referencia, mientras a altas concentraciones ninguno la inhibió. Los lotes piloto e industriales mostraron resultados satisfactorios en cuanto a los parámetros de calidad del medio. Se desarrolló, hasta la etapa industrial, una composición altamente nutritiva capaz de recuperar *Salmonella* en bajas concentraciones de inóculo entre 10-100 UFC/mL.

CONTROL, ASEGURAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN.

SUPRAMOLECULAR IMMOBILIZATION OF STREPTAVIDIN ON GOLD NANOPARTICLES FOR ANTIBODY DETECTION.

Yeisy C. López Conde¹, Darío González². ¹ General and Inorganic Chemistry Department, Chemistry Faculty, Havana University, Cuba; email: yclopez@fq.uh.cu. ²Posdoctoral Researcher at CeNTech GmbH, Germany.

Streptavidin is a worldwide used protein for the detection of biotinylated antibodies in diagnosis kits. The biotin-streptavidin system ($K_{\text{affinity}} = 10^{14}$ mol/L) is one of the most employed for those purposes and its immobilization on different supports is an alternative for the conventional enzyme-linked immunosorbent assays, i.e. ELISA. Gold nanoparticles (AuNP) are attractive supports for the immobilization of antibodies due to their optoelectronic properties. Laccase is one the most used enzymes for developing color in ELISA tests. Gold nanoparticles modified with mercaptoundecanoic acid were synthesized and characterized by TEM, UV-vis and DLS. Surface Plasmon Resonance (SPR) maximum was observed at 520 nm. AuNP were stabilized by means of a ligand exchange process using PEG-SH in PEG:AuNP ratios $10^2:1$ and $10^5:1$. Next, laccase was covalently immobilized using a water soluble carbodiimide and enzymatic activity was obtained. Biotinamide was covalently attached to AuNP using EDC. The SPR maximum had a red shift up to 538 nm after the procedure. This shift represents a sign of aggregation on the colloidal system; nevertheless the AuNP-Lac-Bioc obtained does not precipitate over time. A blue shift down to 535 nm of the SPR position demonstrated that streptavidin was efficiently immobilized and indicates the disaggregation of the system after the process. Enzymatic activity was observed after both modification procedures.

RELACION GENÉTICA DE CEPAS VACUNALES DE *Pasteurella multocida* MEDIANTE ELECTROFORESIS DE CAMPOS PULSADOS EN MINIGELES.

Ariadna Rodríguez Pérez¹; Gladys Prohenza Naranjo¹; Karen León Arcia². ¹Empresa Productora de Vacunas Virales y Bacterianas, Grupo Empresarial de Laboratorios Biológicos y Farmacéuticos (LABIOFAM), Ave. Independencia, Km, 16 ½, Boyeros, La Habana, Cuba. ²Centro de Neurociencias de Cuba, Calle 190, e/ 25 y 27, Cubanacán, Playa, La Habana, Cuba, CP 10600. Email: rey.rdguez@infomed.sld.cu.

Introducción: La bacteria gram negativa *Pasteurella* provoca la pasteurelosis, una de las enfermedades bacterianas más significativas en los conejos y una de las mayores causas de considerables pérdidas económicas en las unidades productivas alrededor del mundo. Este microorganismo provoca la septicemia hemorrágica, pasteurelosis provocada por serotipos particulares de *Pasteurella* manifestada en una aguda septicemia que provoca la muerte del animal. El objetivo de la presente investigación es determinar la relación genética entre cuatro cepas vacunales de *Pasteurella multocida* mediante la técnica de ECP en minigeles. **Materiales y Métodos:** Se utilizaron cuatro cepas de *Pasteurella multocida* aisladas de conejos identificadas con los códigos 129, 248, Thelma y PM₂Granma a las cuales se les realizó ECP utilizando la enzima de restricción *ApaI*. Los fragmentos de restricción se separaron mediante ECP usando el Sistema GUEFAST (Neuronic SA, Cuba), en geles de agarosa 1.5%. Las corridas electroforéticas se realizaron en las mini cámaras de configuración CHEF aplicando 145V. **Resultados y Discusión:** Los cuatro patrones de bandas obtenidos al analizar el genoma de las cepas de *Pasteurella multocida* mostraron diferencias en cuanto a cantidad de bandas de ADN y sus posiciones en el gel. Las cepas *P. multocida* 129 y *P. multocida* 248 presentaron el mayor coeficiente de similitud genética (46%). **Conclusiones:** Se plantea que las cepas están relacionadas genéticamente si presentan $\geq 80\%$ de similitud en el dendograma, encontrándose que las cuatro cepas estudiadas no presentan relación genética entre sí por tanto pueden ser utilizados como candidatas vacunales para la prevención de esta enfermedad.

IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE RESISTENCIA A COTRIMOZAXOL Y ATOVACUONE EN PNEUMOCYSTIS JIROVECI EN EXUDADOS NASOFARÍNGEOS DE NIÑOS CON SOSPECHA DE SÍNDROME COQUELUCHOIDE.

AUTORES: Yaxsier de Armas^{1*}, Ernesto Monroy¹, María T Illnait¹, Gilda Toraño¹, Raúl Díaz¹, Virginia Capo¹, Ana E Rodríguez¹, Ledy X López¹, Dania Vega², Ileana Álvarez³, Arturo Plascencia⁴, Enrique Calderón⁵. 1. Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí, La Habana, Cuba. 2. Hospital Pediátrico Juan Manuel Márquez, La Habana, Cuba. 3. Hospital Pediátrico William Soler, La Habana, Cuba. 4. Centro Universitario para la Salud (CUCs), Guadalajara, México. 5. Instituto de Biomedicina de Sevilla, España. * Email: yaxsier@ipk.sld.cu.

INTRODUCCIÓN: *Pneumocystis jirovecii* es considerado uno de los principales patógenos oportunistas en los pacientes con VIH/sida. En los últimos años, cada vez es más frecuente la identificación del hongo en otros grupos poblacionales tales como: pacientes con cáncer, diabéticos, embarazadas, niños y aquellos tratados con fármacos inmunosupresores. En el caso particular de los niños, la infección por este microorganismo se ha asociado con la muerte súbita y neumonía intersticial, aunque su estudio en este grupo poblacional es aún limitado. El fármaco de elección para tratar la infección es el cotrimozaxol y como segunda línea el atovacuone. La presencia de microorganismos resistentes se ha asociado con peor pronóstico de vida para los pacientes. El objetivo de este estudio es identificar a nivel molecular la resistencia de *P. jirovecii* al cotrimozaxol y atovacuone en muestras de niños con sospecha de síndrome coqueluchoide.

MATERIALES Y MÉTODOS: Para ello, se obtuvo el ADN de *P. jirovecii* procedente de los exudados nasofaríngeos mediante en el empleo del paquete comercial de Qiagen. Se realizó la PCR de los genes involucrados en la resistencia al cotrimozaxol (dihidropteroato síntesis, DHPS) y atovacuone (citocromo b, CYB). Los genotipos de resistencia se identificaron mediante polimorfismo de los fragmentos de restricción y secuenciación nucleotídica. **RESULTADOS:** El estudio destaca la presencia de *P. jirovecii* en 29,3% de niños con síndrome coqueluchoide. La caracterización de los genes involucrados en la resistencia (DHPS y CYB) mostró 18,0% y 10,0% de resistencia a cotrimozaxol y atovacuone, respectivamente. **CONCLUSIONES:** Se demostró por primera en Cuba, la existencia de resistencia a cotrimozaxol y atovacuone en *P. jirovecii*, lo cual es una información valiosa y novedosa para el sistema de salud y el manejo clínico de estos pacientes.

ANALYTICAL EVALUATION OF THE ACTIVE PHARMECEUTICAL INGREDIENT (API) OF EGF IN A FORMULATION OF PELLET FOR THE TREATMENT OF ULCERATIVE COLITIS.

Authors: Terrero Y¹, Aguilera A¹, Bermúdez Y¹, Torres D¹. ¹Dirección de Desarrollo Tecnológico. Yanet.terrero@cigb.edu.cu.

Abstract

Introduction: Ulcerative colitis is a chronic, medically incurable, but maintainable, condition. It is characterized by inflammation and ulceration of the inner wall of the colon. Typical symptoms include diarrhea (sometimes bloody) and often abdominal pain. A biopharmaceutical product, Human epidermal grow factor (EGF) Pellet, is being developed at Center for Genetic Engineering and Biotechnology (CIGB), Division of Technological Development, which is being studied for use in the treatment of ulcerative colitis in animal biomodel administered orally in animals with colitis and treated with EGF pellet. Recovery morphological changes were observed, this product could be use in individuals suffering from this condition. The active pharmaceutical ingredient of this product is a potent mitogenic peptide produced by salivary and duodenal Brunner’s glands that stimulates several components of the healing response. The objective of this work is the analytical control of the active pharmaceutical ingredient (API) present in the Pellet formulation. **Materials and Methods:** Pellet batch, Placebo batch, Reference and Biologicals Materials and others reagents. The analytical methods used for the control of the API were: ELISA for the quantification of EGF, identification was determined by SDS-PAGE and Reverse-phase Chromatography by HPLC methods. Immunoidentification was performed using a conjugated monoclonal antibody specific for the EGF by the Western blot method. **Results:** Purity by SDS-PAGE and RP-HPLC are higher than 95 and 90 % respectively, practical values of proteins are similar to the values of product formulation. **Conclusions:** The results obtained demonstrate that the analytical procedure used to extract the EGF molecule as the ones used for its analytical control, fulfilled their purpose for which they were designed.

ESTUDIO DE ESTABILIDAD DE FACTOR DE CRECIMIENTO EPIDÉRMICO HUMANO RECOMBINANTE COMO INGREDIENTE FARMACÉUTICO ACTIVO DEL HEBERPROT-P.

Angela Fidalgo Maceo, Maribel Vega Simón, Yania Suárez, Adisley Dorta, Gerardo García Illera, Lourdes Costa Anguiano, Marcia M Silverio, Cristina Rodríguez, Indira Pla Parada. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología. Avenida 31 entre 158 y 190, Playa, La Habana 11600, Cuba. angela.fidalgo@cigb.edu.cu.

En el Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología se desarrolló el Heberprot-P, una formulación farmacéutica parenteral, cuya composición se basa en el Factor de crecimiento Humano recombinante. Es un medicamento único prescrito para la terapia de la úlcera severa del pie diabético y está registrado en 21 países. Para la actualización del registro sanitario del Heberprot-P como producto terminado, es importante la presentación de los estudios de estabilidad de su Ingrediente Farmacéutico Activo (IFA). Para ello se realizó el estudio de estabilidad real ó a largo plazo a la temperatura de $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ durante 12 meses a lotes producidos a escala industrial para determinar la fecha de vencimiento definitiva del IFA. El estudio de estabilidad acelerada se realizó a la temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 6 meses para evaluar posibles cambios que pudieran ocurrir cuando el producto permanece a temperaturas superiores a la de su almacenamiento. En cada uno de los estudios se evaluaron características físicas, químicas, biológicas y microbiológicas. Se estableció que el IFA del Heberprot-P se mantiene estable durante 12 meses a la temperatura de $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ utilizando como envase las bolsas de etilvinilacetato, tiempo que se propuso como periodo de validez. Mediante el estudio acelerado se comprobó que el IFA solo es estable por 2 meses a la temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$.

ESTABILIDAD DE VIRUS MENGO EN EL TIEMPO.

Yusnelis Bustamante Pérez¹, Dayana de la Caridad Brito López¹, Haydee Gerónimo Pérez¹, Luisa Glenda Silega Coma¹, Yaima Martínez Prieto¹, Samuel Mesa Alvarez¹, Olga Brito Lamadrid¹. ¹Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB), La Habana, Cuba. Email: yusnelis.bustamante@cigb.edu.cu.

La Potencia Biológica, para el Interferón alfa-2b recombinante, producido en el Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, se estima mediante un ensayo de actividad antiviral. La especie *Encephalomyocarditis virus*, (ATCC No. VR-129B), es uno de los agentes infecciosos recomendados, por la Farmacopea Europea. Contar con Bancos Semillas, bien caracterizados, garantiza un alto estándar en el Control de la Calidad de los productos. El objetivo fundamental de este trabajo es demostrar la estabilidad de los Bancos Semilla de Virus. Para ello se determinó el Título Infeccioso, realizando diluciones seriadas 1/10, del virus, adicionando 100 µL sobre la línea celular Hep-2C, luego de 18 horas de incubación, se realiza la lectura y cálculo del efecto citopático. La multiplicidad de infección se determinó, enfrentando a las células a diferentes dosis de Interferón. Se tuvo en cuenta la Dosis Efectiva media, de protección y lisis celular. Estos parámetros se evaluaron en los 0, 6, 9 y 12 meses, luego de confeccionado. Se demostró la estabilidad, de los Bancos Semilla, durante el año en estudio.

RIEGO BIOLÓGICO, AMBIENTAL Y ECONÓMICO DEL MANEJO DE *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 EN LIORAD+

José Antonio Trimiño Romero¹, Esther Argote Pelegrino², Nancy Burguet Lago³ Franger Castillo⁴ (1), (3) Laboratorios Liorad, (2) Sociedad Veterinaria de Cuba. La Habana, Cuba. trimi@liorad.aica.cu.

Resumen.

Introducción. Objetivo y prioridad de la bioseguridad lo constituyen la gestión de los riesgos biológicos al que se encuentra expuesto el personal que realiza ensayos microbiológicos, por otro lado resulta de gran importancia considerar además la dimensión económica y ambiental del problema, en tal sentido resulta imprescindible la evaluación del riesgo que implica el manejo de cada cepa microbiana depositada en el Laboratorio de Control Biológico empleadas en la certificación de calidad del fármaco. Objetivo. Analizar el riesgo biológico en el manejo de la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 empleada en el esquema de certificación de calidad que realiza el laboratorio de microbiología en la UEB Liorad. Materiales y Métodos. Se utilizó el método deductivo inductivo, empleándose una lista de chequeo para determinar el cumplimiento de los requisitos básicos de la bioseguridad, caracterización de la cepa objeto de evaluación, a partir del cual se realizó la evaluación matricial de riesgos, aplicando la metodología descrita en la Directriz 3.5. Gestión del Riesgo Biológico (Manual OIE, 2014). Resultados y Discusión: El laboratorio tiene un alto nivel de cumplimiento de los requisitos básicos de la bioseguridad, existe suficiente experticia en el manejo de la cepa evaluada. Conclusiones: La cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (grupo de riesgo II según la Resolución 38/2006), presenta un moderado riesgo biológico, escaso riesgo para el personal y el entorno, al existir condiciones de instalación apropiadas y adecuada cultura de bioseguridad. La metodología empleada permitió determinar además riesgos económicos y ambientales derivados del manejo de la cepa.