



*Ensayos de Potencia para Vacunas
empleando
Cultivos Celulares*

*MSc. MARIA TERESA IBARZ M.
Jefe División Control Nacional
Productos Biológicos*

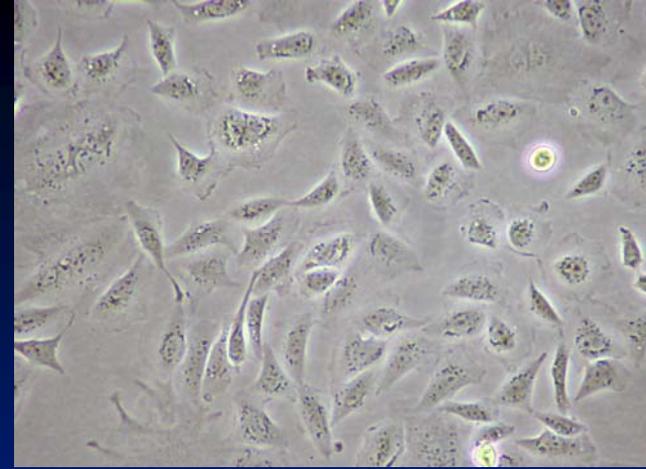
Cultivos Celulares



Se desarrolló a finales del siglo XIX como una continuación de las técnicas de Embriología

Wilhem Roux mantuvo en el año 1885, células de embrión de pollo en solución salina durante unos días

CULTIVOS CELULARES



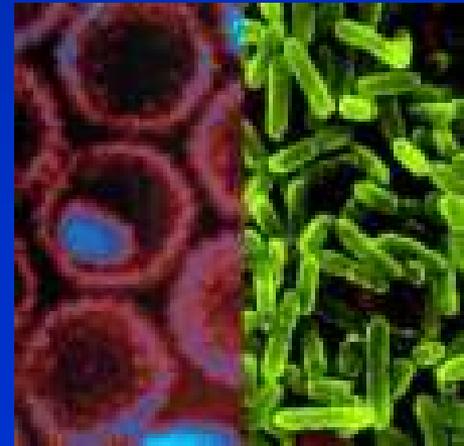
El zoólogo Americano R.G. Harrison (1907) es considerado el iniciador de los cultivos de tejidos animales

Establecimiento de las primeras líneas celulares (HeLa y células-L de ratón)

CULTIVOS CELULARES

Rous y Jones, 1916 emplearon por vez primera vez tripsina para disociar las células de embriones de pollo, estableciendo el primer cultivo celular.

Uno de los mayores problemas para el establecimiento de los cultivos celulares es la aparición de múltiples contaminaciones

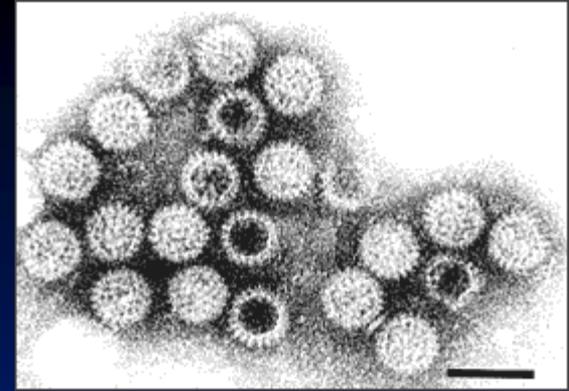


CULTIVOS CELULARES

Aplicaciones:

- Diagnóstico
- Virología y producción de vacunas virales
- Investigación del cáncer
- Producción de proteínas
- Estudios de toxicidad
- Producción tejidos, piel para transplantes
- Aplicaciones industriales y agrícolas

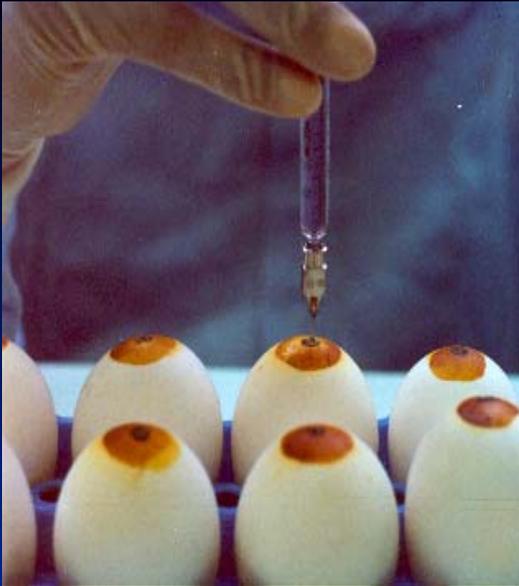
VIROLOGÍA



CULTIVOS CELULARES

Virus VIH

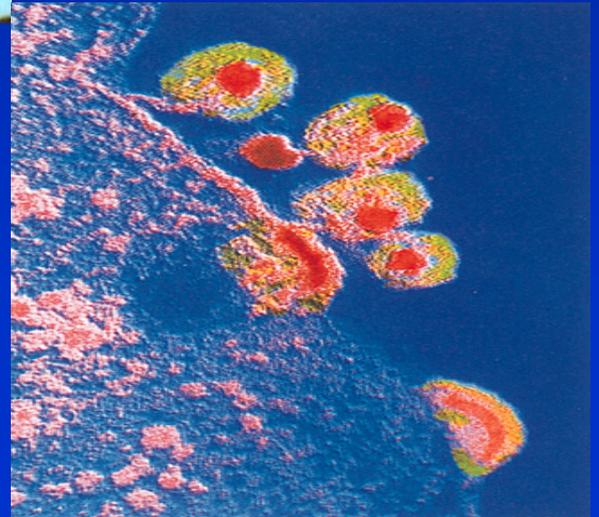
Producción Vacunas Virales



Animal completo
O Cultivo Primario



Fiebre Amarilla
Sarampión

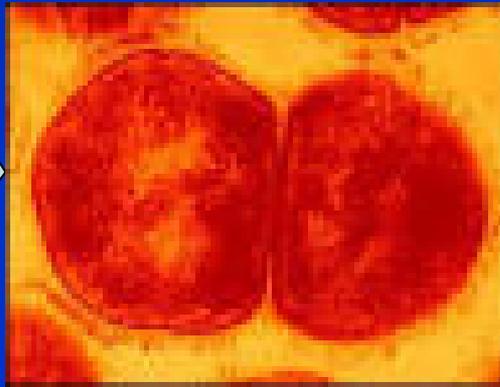


Línea Celular

Producción Vacunas Virales



SUSPENSION VIRAL



**SUSPENSION
VIRAL**



PURIFICACION



FORMULACION

**Inactivada/
Fraccionada**

Atenuada

CULTIVOS CELULARES

DIAGNOSTICO

Cuantificación de virus



1) *Microscopía Electrónica*

Cuantificación de virus

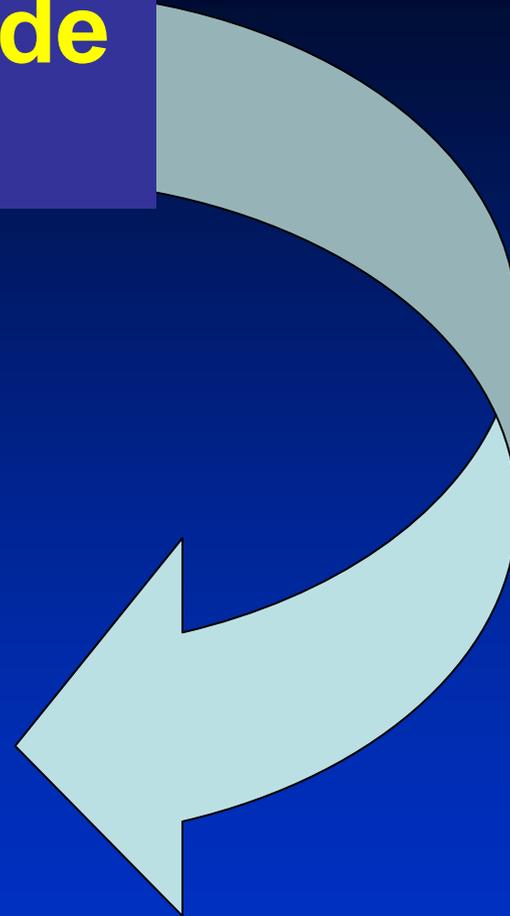
2) *Efecto sobre la célula hospedadora (Unidad vírica infectiva)*

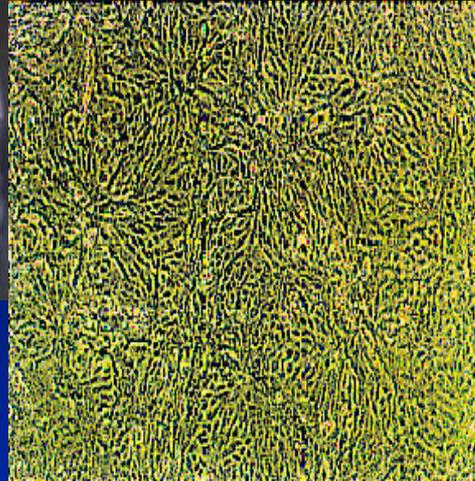
- *Formación de placas de lisis*
- *Efecto Citopático*
- *Efecto no Visible:*
 - *Hemaglutinación*
 - *Inmunofluorescencia*
 - *Tinción*

Cuantificación de Virus



**POTENCIA VACUNA
VIRAL ATENUADA**



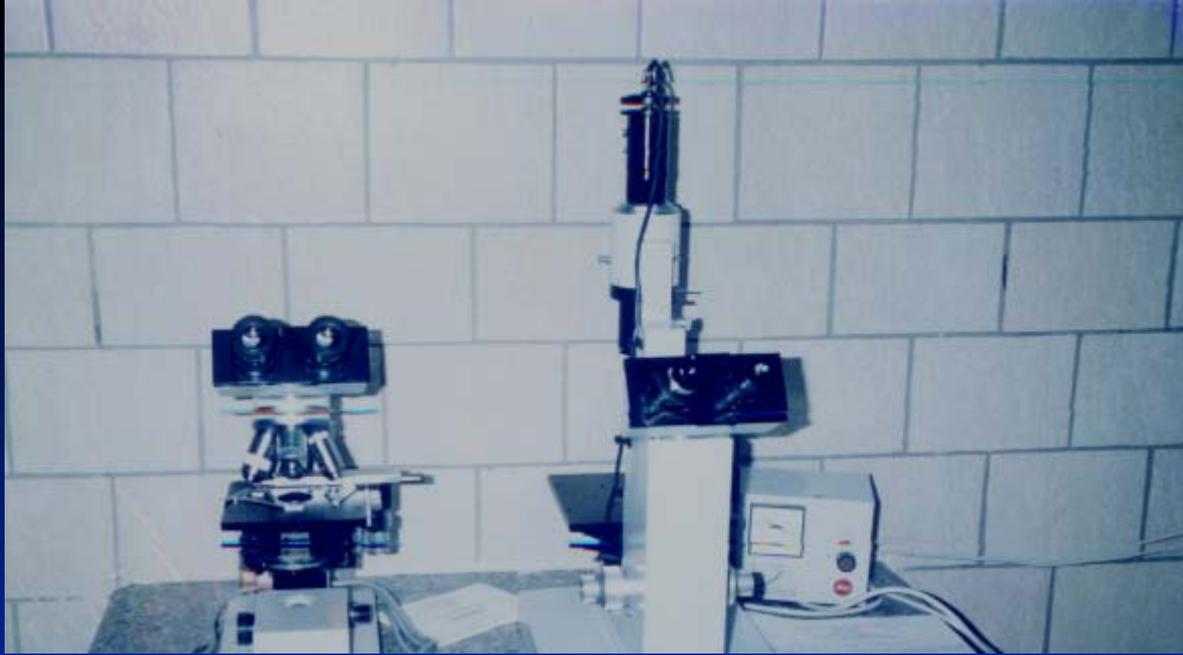


**LINEA CELULAR
SUCEPTIBLE
LIBRE DE AGENTES
ADVENTICIOS**



**POTENCIA VACUNA
VIRAL ATENUADA**

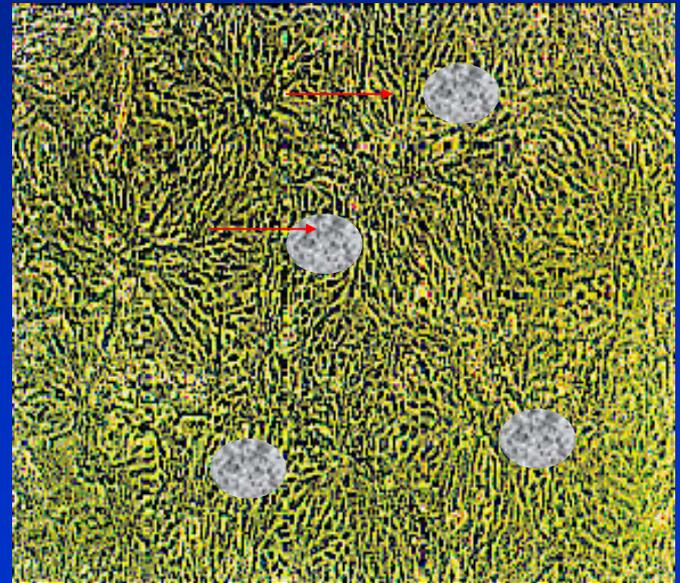




Determinación del Efecto Citopático



**Dosis Infecciosa Cultivo Celular 50
(DICC50)**



PRUEBAS EN CULTIVOS CELULARES

Ventajas

- Control del medio ambiente
- Homogeneidad. Morfología y Composición uniforme.
- Se pueden hacer réplicas idénticas, superando la heterogeneidad de animales de experimentación.



CULTIVOS CELULARES



- Economía en el uso de reactivos o Vacunas a estudiar. Emplea volúmenes reducidos
- Motivaciones Éticas



CULTIVOS CELULARES

Desventajas

- Técnica sensible
- Crecimiento células animales mucho más lento que los contaminantes más habituales (hongos, levaduras, bacterias, micoplasmas,...)
- Organismos pluricelulares requieren compleja mezcla de nutrientes, que simula el plasma o el fluido intersticial.

CULTIVOS CELULARES

- Condiciones de asepsia en todo momento

- Instrumental y personal calificado para su manipulación

- Cantidad y costo:
1 g Cultivo Celular es 10 veces más costoso que el animal.



CULTIVOS CELULARES

- **Inestabilidad.**

Dotación cromosómica
aneuploide

Diferencias significativas entre
generaciones

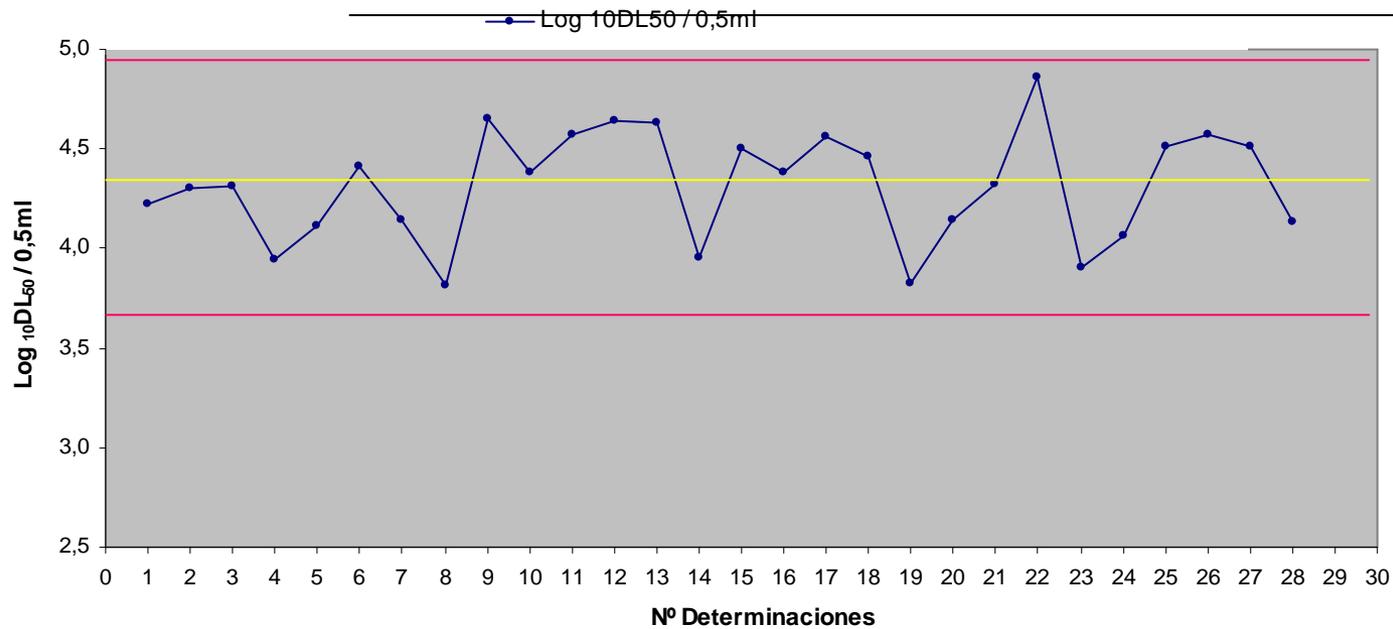
Se emplean por determinado número de
generaciones



CONTROL ESTADÍSTICO DE PROCESOS

GRAFICAS DE CONTROL

PATRÓN VACUNA ANTIAMARILICA



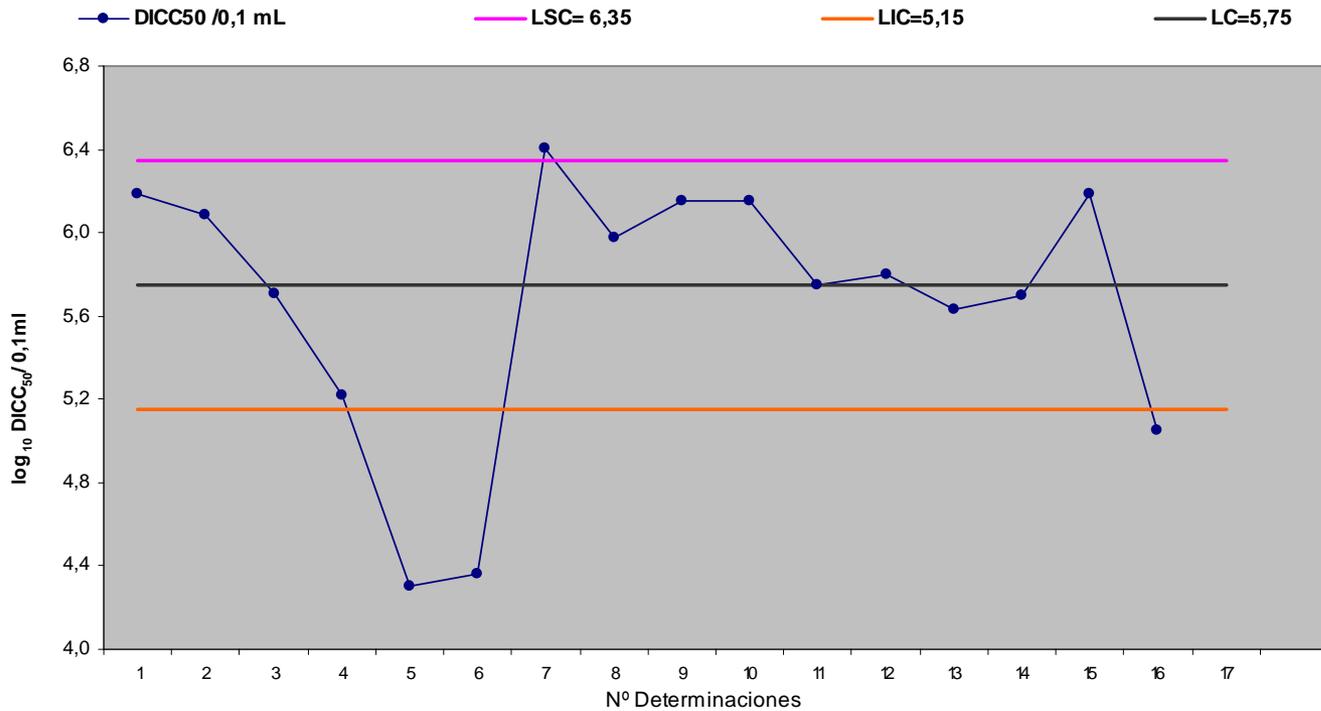
LIMITE
SUPERIOR

MEDIA
ARITMETICA

LIMITE
INFERIOR

CONTROL ESTADÍSTICO DE PROCESOS

GRAFICAS DE CONTROL



Calificación de Analistas:

Guías emitidas por la Conferencia
Internacional de Armonización (ICH)
documentos Q2A5 y Q2B6

RESULTADOS CALIFICACION ANALISTAS PRUEBA POTENCIA VAC. SARAMPION

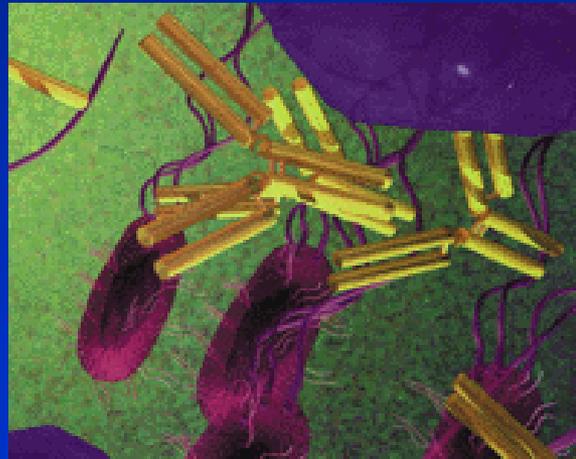
Día	Resultados por analista								inter-analistas	
	A		C		D		E		Media (n=80)	%CV
	Media (n=4)	%CV	Media (n=4)	%CV	Media (n=4)	%CV	Media (n=4)	%CV		
1	3,02	4,98	3,22	4,95	3,22	4,44	3,12	1,50	3,21	4,86
2	3,02	3,92	3,21	1,70	3,32	6,72	3,34	2,58		
3	3,20	5,54	3,08	2,75	3,33	7,08	3,24	1,54		
4	3,33	1,94	3,13	4,89	3,25	5,40	3,29	3,72		
5	3,16	3,82	3,36	5,20	3,26	2,96	3,12	1,86		
Intra-analista	Media (n=20)	3,15	3,20	3,27	3,22					
	%CV	5,31	4,79	5,10	3,52					

CULTIVOS CELULARES

- El cultivo celular no puede reemplazar siempre al ensayo 'in vivo'

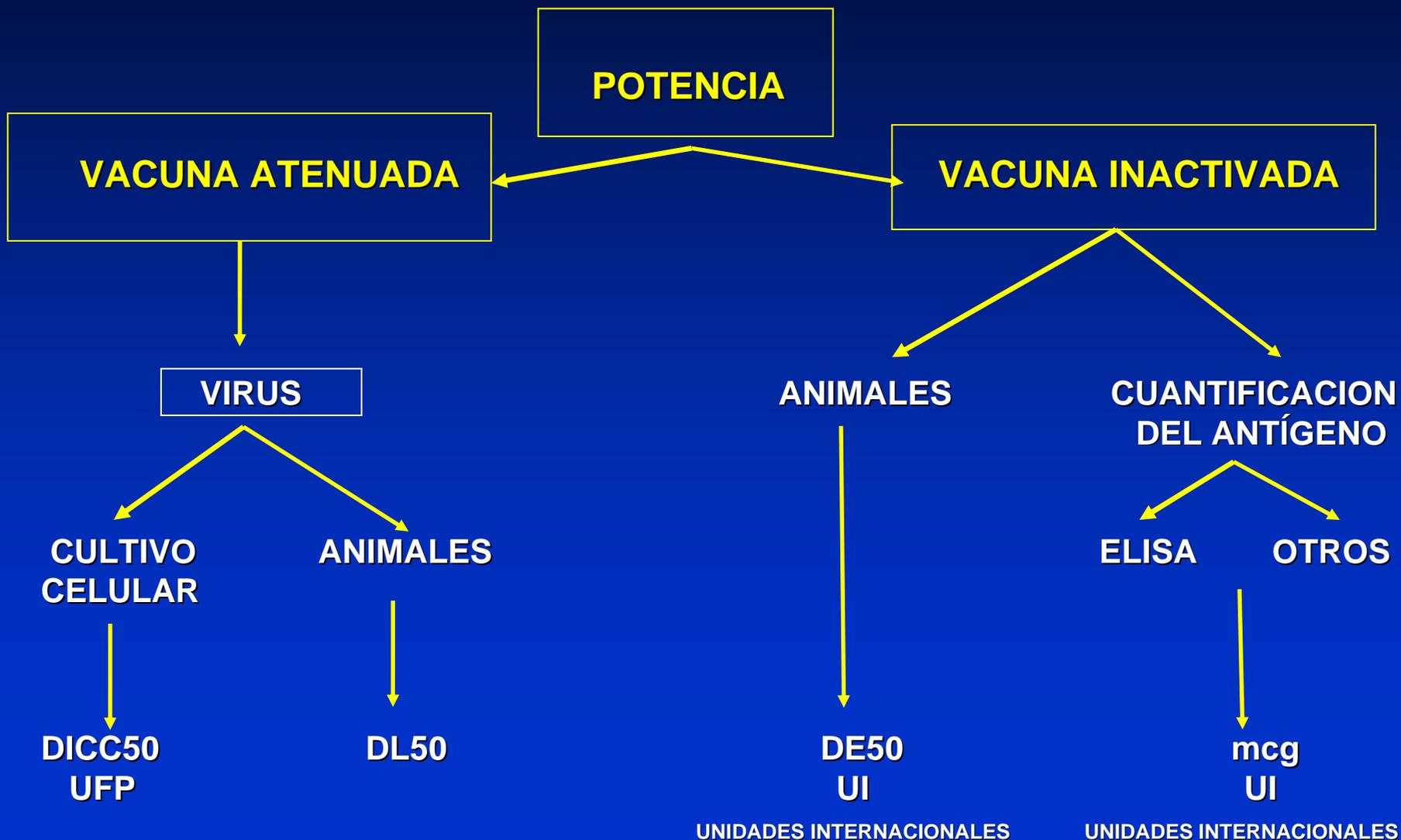


**DESAFÍO /
RESPUESTA
INMUNE**



PROTECCIÓN

RESUMEN PRUEBAS POTENCIA Y/O CUANTIFICACIÓN Ag EN VACUNAS



UNIDADES INTERNACIONALES

UNIDADES INTERNACIONALES



GRACIAS