

REVISIÓN

## Bioprocess Engineering: Advances in Cell Culture Systems, Reactor Design, Scale-up Strategies, and Intensification Processes for the Production of Biological and Bioactive Compounds

### Ingeniería de Bioprocesos: Avances en Sistemas de Cultivo Celular, Diseño de Reactores, Estrategias de Escalado y Procesos de Intensificación para la Producción de Compuestos Biológicos y Bioactivos

Freddy Ednildon Bautista-Vanegas<sup>1,2</sup>  , Pablo Carías<sup>3</sup> , Luis Mariano Tecuatl Gómez<sup>4</sup>, Rebeca Rocio Gomez Rosales<sup>5</sup> , Themis Karim Ocampo Gamboa<sup>6</sup>  , Jhossmar Cristians Auza-Santivañez<sup>7</sup>  , Estefannie Eunice Valverde Fernández<sup>8</sup>  , Blas Apaza-Huanca<sup>7</sup>  , Ingrid Neysa Cabezas-Soliz<sup>7</sup>  , Jose Luis Diaz-Guerrero<sup>9</sup>  , Ruben Marco Antonio Soliz-Mendoza<sup>10</sup> 

<sup>1</sup>Kliniken Beelitz GmbH Neurologische Rehabilitationsklinik: Beelitz Heilstätten, Brandenburg, DE. Germany.

<sup>2</sup>Neurologisches Fachkrankenhaus für Bewegungsstörungen / Parkinson: Beelitz Heilstätten, Brandenburg, DE. Germany.

<sup>3</sup>Facultad de Ciencias Médicas. Departamento de Cirugía. Universidad Nacional Autónoma de Honduras. Tegucigalpa, Honduras.

<sup>4</sup>ISSSTE San José del Cabo. Universidad De Los Cabos. México.

<sup>5</sup>Hospital Infante Juvenil Menino de Jesus M. São Paulo, Brazil.

<sup>6</sup>Universidad de Aquino Bolivia (UDABOL). Santa Cruz, Bolivia.

<sup>7</sup>Ministerio de Salud y Deportes. Instituto Académico Científico Quispe-Cornejo. La Paz, Bolivia.

<sup>8</sup>Universidad Evangélica Boliviana. Sociedad Científica de Estudiantes de Medicina SOCIEM-UEB. Santa Cruz, Bolivia.

<sup>9</sup>Seguro Social Universitario Tarija (SSUT). Servicio de Ecografía. Tarija, Bolivia.

<sup>10</sup>Centro de Salud "San Juan Kenko". Red de Salud Corea. La Paz, Bolivia.

**Citar como:** Bautista-Vanegas FE, Carías P, Tecuatl Gómez LM, Gomez Rosales RR, Ocampo Gamboa TK, Auza-Santivañez JC, et al. Bioprocess Engineering: Advances in Cell Culture Systems, Reactor Design, Scale-up Strategies, and Intensification Processes for the Production of Biological and Bioactive Compounds. eVITROKHEM. 2025; 4:149. <https://doi.org/10.56294/evk2025149>

Enviado: 01-08-2024

Revisado: 07-12-2024

Aceptado: 19-04-2025

Publicado: 20-04-2025

Editor: Prof. Dr. Javier Gonzalez-Argote 

Autor para la correspondencia: Jhossmar Cristians Auza-Santivañez 

#### ABSTRACT

Bioprocess engineering is undergoing an unprecedented transformation, driven by the growing demand for complex and bioactive biological products across diverse industries, from pharmaceuticals to food and energy. Recent advances have redefined the efficiency, scalability, and sustainability of biomanufacturing. Key elements of this evolution include the widespread adoption of single-use systems, the integration of automation and artificial intelligence (AI) for precise control and predictive optimization, and the fundamental shift toward continuous bioprocessing. These innovations not only reduce costs and production times but also improve product quality and consistency, enabling the manufacturing of personalized therapies and high-value compounds. Scaling strategies have diversified to include both scale-up and parallel expansion (scale-out), tailored to specific product needs. Together, these developments are laying the foundation for more agile, cost-effective, and environmentally responsible biomanufacturing, preparing the industry to address global challenges in health and sustainability.

**Keywords:** Bioprocesses; Cell Culture; Bioreactors; Engineering.

#### RESUMEN

La ingeniería de bioprocesos se encuentra en una fase de transformación sin precedentes, impulsada por la creciente demanda de productos biológicos complejos y bioactivos en diversas industrias, desde la

farmacéutica hasta la alimentaria y la energética. Los avances recientes han redefinido la eficiencia, la escalabilidad y la sostenibilidad de la biofabricación. Elementos clave de esta evolución incluyen la adopción generalizada de sistemas de un solo uso, la integración de la automatización y la inteligencia artificial (IA) para un control preciso y una optimización predictiva, y el cambio fundamental hacia el bioprocesamiento continuo. Estas innovaciones no solo reducen los costos y los tiempos de producción, sino que también mejoran la calidad y la consistencia del producto, permitiendo la fabricación de terapias personalizadas y compuestos de alto valor. Las estrategias de escalado se han diversificado para incluir tanto el aumento de volumen (scale-up) como la expansión en paralelo (scale-out), adaptándose a las necesidades específicas del producto. En conjunto, estos desarrollos están sentando las bases para una biofabricación más ágil, rentable y ambientalmente responsable, preparando la industria para abordar los desafíos globales en salud y sostenibilidad.

**Palabras clave:** Bioprocesos; Cultivo Celular; Bioreactores; Ingeniería.

## INTRODUCCIÓN

El campo de la ingeniería de bioprocesos está experimentando una rápida transformación, impulsada por tendencias y tecnologías emergentes que prometen revolucionar industrias que van desde la farmacéutica hasta la producción de alimentos.<sup>(1)</sup> En su esencia, la ingeniería de bioprocesos se dedica al desarrollo y la implementación de procesos que utilizan organismos vivos o sistemas biológicos para producir productos valiosos. Esta disciplina es fundamental para sectores como el farmacéutico, alimentario y de biocombustibles, e implica la construcción de sistemas especializados, como los biorreactores, que facilitan los procesos biológicos.<sup>(2)</sup>

La industria está transitando hacia operaciones inteligentes, sostenibles y continuas, un cambio impulsado por la innovación, la digitalización y una orientación centrada en el paciente.<sup>(3)</sup> Esta evolución es una respuesta directa al aumento constante en la demanda de productos biológicos, que incluyen vacunas, anticuerpos monoclonales y terapias celulares y génicas. Este incremento en la demanda subraya la necesidad crítica de soluciones avanzadas en bioprocesamiento.<sup>(4)</sup> El cambio de los métodos de procesamiento tradicionales por lotes a un bioprocesamiento continuo, automatizado y digitalizado representa una reconfiguración fundamental de los flujos de trabajo de biofabricación. Esta transformación no es meramente una mejora incremental, sino un cambio de paradigma impulsado tanto por presiones internas de la industria, como la necesidad de reducir costos, aumentar la eficiencia y mejorar la calidad, como por las demandas externas del mercado, particularmente en el ámbito de la medicina personalizada.<sup>(5)</sup> La adopción de estas tecnologías transformadoras es esencial para superar las limitaciones de los métodos tradicionales, que a menudo no logran satisfacer las crecientes demandas de producción, los altos costos y la variabilidad inherente.

### Importancia y Diversas Aplicaciones de la Ingeniería de Bioprocesos

La ingeniería de bioprocesos es un campo multidisciplinar de importancia crítica con una amplia gama de aplicaciones industriales. Este campo abarca desde la producción de alimentos y bebidas, como productos lácteos (quesos, yogur), bebidas alcohólicas (cerveza, vinos) y productos vegetales (salsa de soja, tofu), hasta aditivos alimentarios y suplementos (sabores, proteínas). En el sector de la salud, es fundamental para la fabricación de enzimas utilizadas en diversas industrias (salud, alimentos, lavandería, papel y textiles), así como para la producción de biofarmacéuticos, incluyendo vacunas, anticuerpos monoclonales y terapias celulares y génicas.<sup>(2)</sup>

Además, la ingeniería de bioprocesos desempeña un papel vital en la producción de biocombustibles como el etanol, el biodiésel, el butanol, el biohidrógeno y el biogás, utilizando microorganismos en biorreactores. En aplicaciones ambientales, contribuye significativamente al tratamiento de aguas residuales y residuos sólidos, la biorremediación del suelo y la recuperación de minerales, aprovechando la capacidad de los organismos para utilizar contaminantes como fuente de alimento. Los biofiltros, por ejemplo, emplean microorganismos para eliminar contaminantes y olores del aire. La ingeniería de bioprocesos moderna aprovecha técnicas de ingeniería genética y biología molecular para mejorar los rendimientos y la eficiencia de los productos.<sup>(2)</sup> Es esencial para desarrollar microorganismos transformados y nuevos biocatalizadores, así como para comprender las interacciones de las proteínas con sus entornos, lo que permite la producción de nuevas moléculas o la optimización de bioproductos existentes.<sup>(2)</sup>

La amplia aplicabilidad de la ingeniería de bioprocesos en sectores tan diversos como la salud, la alimentación, la energía y el medio ambiente pone de manifiesto su papel fundamental en la construcción de una economía sostenible y basada en la biología. Esto significa que el campo va más allá de la mera producción farmacéutica, abarcando soluciones para desafíos globales como el cambio climático y las necesidades de atención médica. La capacidad de aplicar principios de ingeniería fundamentales (diseño de reactores, cultivo celular, escalado)

a resultados tan variados indica una disciplina poderosa y versátil. Esta versatilidad, a su vez, sugiere que las innovaciones en un sector, como el biofarmacéutico, pueden potencialmente beneficiar a otros, como la producción de alimentos o biocombustibles, fomentando la necesidad de una transferencia de conocimientos y colaboración interdisciplinaria.<sup>(2)</sup>

## DESARROLLO

### Tecnologías de cultivo celular de nueva generación

El mercado de la biotecnología ha experimentado un crecimiento significativo, impulsado por innovaciones como las tecnologías de un solo uso, las líneas celulares avanzadas y los biorreactores de última generación.<sup>(9)</sup>

Los sistemas de bioprocesamiento de un solo uso han marcado un cambio fundamental en los últimos años. Estos sistemas, que emplean componentes desechables como bolsas, tubos y filtros, ofrecen ventajas sustanciales sobre los biorreactores tradicionales de acero inoxidable, incluyendo un riesgo reducido de contaminación cruzada, mayor flexibilidad en el escalado de la producción y tiempos de configuración más rápidos. El mercado de bioprocesamiento de un solo uso está experimentando un crecimiento exponencial, con proyecciones que indican un aumento de \$ 28,45 mil millones en 2023 a \$ 128,24 mil millones para 2033. Este crecimiento refleja el reconocimiento de la industria sobre la eficiencia y la rentabilidad que ofrecen estos sistemas, especialmente para la producción a pequeña escala o a escala clínica, donde la flexibilidad y la velocidad son primordiales.<sup>(4)</sup> Se estima que los sistemas de un solo uso pueden ahorrar más del 60 % en comparación con los biorreactores de acero inoxidable de activos fijos.<sup>(5)</sup>

La integración de la automatización y las tecnologías digitales está revolucionando el bioprocesamiento. Este avance se impulsa por el enfoque de la industria en mejorar la eficiencia, reducir el error humano y permitir el monitoreo y control en tiempo real de los bioprocesos.<sup>(1)</sup> La automatización se considera un área crítica para la maduración y optimización de la industria biofarmacéutica, ya que agiliza los procesos de producción, mejora la consistencia y, en última instancia, reduce los costos.<sup>(4)</sup> Los sistemas robóticos se emplean para tareas como el cultivo celular, la preparación de medios y la manipulación de muestras.<sup>(10)</sup>

La integración de la inteligencia artificial (IA) y el aprendizaje automático (ML) está mejorando el rendimiento de los sistemas de bioprocesamiento, lo que se traduce en una mayor velocidad de comercialización y mejores rendimientos de producto.<sup>(5)</sup> La IA tiene la capacidad de analizar vastos conjuntos de datos para predecir condiciones óptimas del biorreactor, optimizar parámetros de proceso y automatizar tareas.<sup>(1)</sup>

La convergencia de los sistemas de un solo uso con la automatización y la IA genera un efecto sinérgico, facilitando un modelo de “fábrica inteligente y flexible” que reduce significativamente los riesgos y acelera el desarrollo y la fabricación de biofarmacéuticos, especialmente para medicamentos personalizados. Los sistemas de un solo uso proporcionan la flexibilidad física y la rapidez necesarias para diversas carteras de productos y la medicina personalizada. La automatización y la IA, por su parte, aportan la precisión, el control y la inteligencia de datos para gestionar estos sistemas flexibles de manera eficiente, consistente y con un mínimo error humano. La combinación de estas tecnologías permite un entorno de fabricación modular y ágil que puede adaptarse rápidamente a las demandas cambiantes, reducir el tiempo de comercialización y garantizar la calidad del producto, lo cual es fundamental para las terapias novedosas. Este modelo de “fábrica inteligente y flexible” surge como una consecuencia directa, abordando los desafíos centrales de costo, velocidad y calidad en un panorama biofarmacéutico dinámico.<sup>(11,12)</sup>

### Cultivo Celular de Alta Densidad e Intensificación del Cultivo Semilla

El cultivo celular de alta densidad es una característica altamente deseable en los procesos industriales debido a la mejora en la productividad, la alta productividad volumétrica, la reducción del volumen de cultivo (lo que facilita el procesamiento downstream), la facilitación de la separación celular, la mejora del rendimiento en la recuperación del producto y la reducción de costos.<sup>(13)</sup>

La intensificación del cultivo semilla es un enfoque clave en el bioprocesamiento upstream para garantizar procesos de producción eficientes y flexibles para nuevos fármacos. Permite a los laboratorios y fabricantes cultivar un número adecuado de líneas celulares para la inoculación de biorreactores de producción. La criopreservación de alta densidad celular (HCDC) es fundamental para la intensificación del cultivo semilla, implicando la alicuotación de cultivos celulares de alta densidad en contenedores de bioprocesamiento de un solo uso y su criopreservación. Este método ahorra tiempo y es rentable, lo que lleva a un crecimiento celular más rápido, mayores densidades celulares y una reducción en el uso de recursos y espacio de las instalaciones. La HCDC asegura la reproducibilidad del proceso con una viabilidad celular óptima después de la descongelación y mantiene la consistencia del cultivo celular y la densidad celular viable (VCD), reduciendo la variabilidad entre lotes.<sup>(14)</sup>

El enfoque en el cultivo celular de alta densidad y la intensificación del cultivo semilla representa un cambio estratégico de simplemente cultivar más células a cultivar células de manera más inteligente y eficiente en las etapas tempranas del proceso. Esta optimización upstream tiene un impacto positivo en cascada en el

procesamiento downstream y en la economía general de la fabricación. Al lograr densidades celulares más altas en las etapas iniciales, los biorreactores posteriores de mayor tamaño pueden ser inoculados con una densidad celular inicial superior, acortando significativamente el tiempo total de ejecución de la producción y aumentando el rendimiento. Este “adelanto” de la eficiencia reduce el volumen de biorreactor requerido, el consumo de medios y la huella de las instalaciones y los costos operativos asociados en *toda* la cadena del bioproceso. También impacta directamente el procesamiento downstream al proporcionar una alimentación más concentrada, lo que simplifica la purificación. Esto ilustra una relación crítica de causa y efecto: la optimización de las etapas más tempranas del crecimiento celular tiene un efecto positivo multiplicador en toda la cadena de biofabricación, lo que lleva a un proceso general más ágil y rentable.<sup>(15)</sup>

### Sistemas de Cultivo por Perfusión: Técnicas y Beneficios

El cultivo por perfusión es un tipo de cultivo continuo en el que las células se retienen o reciclan de nuevo en el biorreactor, lo que permite un suministro continuo de nutrientes y la eliminación de residuos para mantener un estado estacionario.<sup>(16)</sup> Esto contrasta con el cultivo por lotes alimentados (fed-batch), donde se añaden nutrientes pero no se elimina el medio.<sup>(14)</sup>

Las ventajas de la perfusión incluyen un entorno de cultivo más estéril y estable, lo que permite estudios a largo plazo bajo el microscopio.<sup>(17)</sup> Mantiene altas densidades celulares (50-100x10<sup>6</sup> células/mL frente a 15-25x10<sup>6</sup> células/mL para fed-batch) y logra una alta productividad volumétrica (0,5-2,0 g/L/día frente a 0,2-0,5 g/L/día para fed-batch). Esto conduce a una reducción del volumen de trabajo y de la huella del equipo en comparación con los procesos por lotes o fed-batch.<sup>(16)</sup>

Las técnicas de retención celular para el cultivo por perfusión incluyen la filtración mediante filtros de centrifugación, la filtración de flujo tangencial (TFF), la filtración de flujo tangencial alterno (ATF), los biorreactores de lecho empacado con soportes de crecimiento sólidos como los discos Fibra-Cel®, y los impulsores Cell-Lift con columna decantadora.<sup>(16)</sup> La perfusión es crucial para el cultivo celular 3D, ya que imita los microambientes *in vivo*, y es valiosa para la investigación de fármacos, la biología celular, la farmacología y la medicina regenerativa.<sup>(17)</sup>

El resurgimiento del cultivo por perfusión, inicialmente utilizado para productos inestables, no se debe únicamente a mejoras tecnológicas, sino que también representa una respuesta estratégica a las presiones económicas y de sostenibilidad de la biofabricación. Su capacidad para mantener altas densidades celulares y una calidad de producto constante en una huella más pequeña se alinea perfectamente con la tendencia general de la industria hacia el procesamiento intensificado y continuo, convirtiéndolo en una piedra angular para la biofabricación futura. Históricamente, la perfusión abordaba bajos rendimientos de productos inestables. Ahora, con tecnologías mejoradas (líneas celulares, medios, dispositivos de retención), aborda las demandas económicas y ambientales de la biofabricación moderna. Su alta productividad volumétrica se traduce directamente en una menor huella de las instalaciones y una reducción del CAPEX, lo cual es crucial para la biofarmacéutica sensible a los costos. Además, su naturaleza continua se alinea perfectamente con el cambio de la industria hacia el bioprocesamiento continuo, permitiendo un mayor rendimiento y una calidad de producto consistente. Esto hace que la perfusión no sea solo una elección operativa, sino un facilitador clave para una biofabricación sostenible, rentable y flexible, especialmente a medida que la industria avanza hacia terapias diversas y personalizadas.<sup>(18,19)</sup>

### Innovaciones en Ingeniería de Líneas Celulares

La era de la ingeniería de precisión de líneas celulares ha llegado, aprovechando la edición genética CRISPR, la integración dirigida y la secuenciación de próxima generación para esculpir líneas celulares con estabilidad, productividad y calidad de proteínas mejoradas. La inteligencia artificial y el aprendizaje automático están analizando vastos conjuntos de datos para predecir las condiciones óptimas del biorreactor y anticipar cuellos de botella.<sup>(11)</sup>

Los enfoques multiómicos (genómica, proteómica, metabolómica) proporcionan una comprensión integral de las vías metabólicas y las redes reguladoras para la ingeniería dirigida, mejorando el rendimiento de la biomasa, el contenido de lípidos y la producción de metabolitos. Las tecnologías libres de células permiten procesos de fabricación más rápidos, productivos y robustos con requisitos significativamente menores de espacio y energía, abordando la demanda de ADN plasmídico. Los avances específicos incluyen la predicción de la estabilidad de las líneas celulares CHO utilizando la expresión de genes de reparación del ADN, la reconfiguración de la estrategia de desarrollo de líneas celulares para aumentar la productividad de vacunas, y la mejora del desarrollo de líneas celulares CHO con un enfoque en la capacidad de fabricación del producto a través de la optimización e ingeniería molecular.<sup>(11)</sup>

La integración de ómicas avanzadas y la IA con la edición genética de precisión marca un cambio del desarrollo empírico de líneas celulares a un enfoque de ingeniería altamente racional, predictivo y acelerado. Esto altera fundamentalmente el cuello de botella upstream, permitiendo la creación de “fábricas celulares” a

medida que no solo son más productivas, sino también más robustas y predecibles, lo que impacta directamente la eficiencia downstream y el costo total de los bienes. Históricamente, el desarrollo de líneas celulares podía ser un proceso largo y algo empírico. Los avances actuales, particularmente la fusión de la edición genética de precisión (CRISPR), los datos ómicos completos y la IA/ML predictiva, representan un movimiento hacia el *diseño racional* de fábricas celulares. Esto significa que ya no solo se busca la mejor variante natural, sino que se *diseñan* activamente células con rasgos deseados específicos (por ejemplo, mayor productividad, estabilidad, patrones de glicosilación específicos, perfiles de impurezas reducidos). Esta capacidad de diseño racional se traduce directamente en:

- Desarrollo acelerado: identificación y optimización más rápidas de líneas celulares de alto rendimiento.
- Mejora de la predictibilidad y robustez: las líneas celulares están diseñadas para funcionar de manera consistente bajo condiciones de bioproceso definidas, reduciendo la variabilidad y el riesgo durante el escalado.
- Calidad de producto mejorada: ingeniería directa para atributos de calidad de proteína deseados.
- Reducción de la carga downstream: un producto upstream más limpio y consistente puede simplificar la purificación downstream.
- Esto transforma fundamentalmente el cuello de botella upstream en un punto de partida altamente controlado y optimizado para la biofabricación, impactando toda la cadena de valor.

### Enfoques Innovadores en el Diseño de Biorreactores

Los biorreactores modernos son ecosistemas intrincados diseñados para nutrir y optimizar el crecimiento celular. En ellos, el arte de la ingeniería converge con la ciencia de la biología para aprovechar la vida en diversas aplicaciones.<sup>(20)</sup>

En cuanto a la configuración espacial, los diseños incorporan deflectores y geometrías novedosas (por ejemplo, la forma de trébol de cuatro hojas del Biorreactor Clover) para promover una mezcla uniforme y reducir las zonas muertas, mejorando la transferencia de masa y la distribución de nutrientes. Los

avances en materiales han visto un cambio significativo del vidrio y el acero inoxidable a los sistemas de un solo uso (bolsas desechables), lo que ha revolucionado el diseño al ofrecer una mezcla suave y una transferencia de oxígeno ideal para cultivos celulares sensibles (por ejemplo, el Biorreactor Wave). Los materiales avanzados incluyen polímeros autorreparables, andamios impresos en 3D, recubrimientos de vidrio inteligentes y materiales nanocompuestos.<sup>(20)</sup>

La integración de sensores avanzados permite el monitoreo en tiempo real de parámetros críticos como el pH, el oxígeno disuelto y la temperatura. El Biorreactor IntelliCyt, por ejemplo, utiliza sensores ópticos para proporcionar datos continuos, lo que permite un control preciso. Los sensores integrados ofrecen verificaciones continuas del estado, y el software avanzado interpreta estos datos para realizar ajustes sobre la marcha. La sinergia del software acopla los biorreactores con software inteligente (por ejemplo, BioFlo 320) que puede predecir y ajustar parámetros para condiciones de crecimiento óptimas basándose en algoritmos de aprendizaje automático. Finalmente, la versatilidad de escala es una característica clave, ya que los biorreactores modernos están diseñados para ser escalables, desde modelos de laboratorio hasta gigantes industriales (por ejemplo, la serie Xcellerex XDR), asegurando que los procesos desarrollados a pequeña escala puedan replicarse con precisión al aumentar la escala.<sup>(20)</sup>

La evolución del diseño de biorreactores va más allá de la simple contención para crear “microambientes inteligentes y adaptables”. Este enfoque de diseño holístico, que integra materiales avanzados, detección en tiempo real y software predictivo, es crucial para manejar la creciente complejidad y sensibilidad de los nuevos productos biológicos y garantizar un rendimiento constante en todas las escalas. El objetivo colectivo de estas innovaciones de diseño es transformar el biorreactor de un contenedor estático a un microambiente dinámico, inteligente y adaptable que imita y optimiza con precisión las condiciones para los procesos biológicos. Esto es fundamental porque los productos biológicos modernos a menudo implican líneas celulares más sensibles (por ejemplo, células de mamífero para terapias celulares y génicas) y requieren condiciones de crecimiento altamente específicas para garantizar la calidad y el rendimiento del producto. La integración de materiales avanzados (por ejemplo, de un solo uso para esterilidad y flexibilidad), geometrías sofisticadas (para una transferencia de masa óptima), detección en tiempo real (para datos continuos) y software impulsado por IA (para control predictivo) permite una precisión y capacidad de respuesta sin precedentes. Este enfoque de diseño holístico mitiga los desafíos tradicionales del escalado (heterogeneidad, esfuerzo cortante) y apoya la producción de compuestos biológicos complejos y de alto valor con mayor consistencia y eficiencia.<sup>(21)</sup>

### Tecnologías Avanzadas de Mezclado y Aireación

Un mezclado eficaz es fundamental para asegurar la distribución uniforme de nutrientes, gases y otros componentes esenciales en el medio de cultivo, lo que promueve un crecimiento celular consistente y

maximiza la productividad. Además, contribuye a mantener un pH y una temperatura uniformes, previniendo fluctuaciones localizadas que podrían afectar negativamente la viabilidad celular y la eficiencia del proceso. Un mezclado eficiente también favorece la dispersión de gases como el oxígeno y el dióxido de carbono en la fase líquida, garantizando condiciones óptimas para la respiración celular, el intercambio de gases y las actividades metabólicas.<sup>(21)</sup>

La gestión del esfuerzo cortante resultante del mezclado es un aspecto crítico, ya que los diferentes tipos de células tienen sensibilidades variables a la turbulencia. Una tecnología de mezclado adecuada minimiza el esfuerzo cortante, preservando la integridad celular y mejorando la robustez del proceso.<sup>21</sup>

Los biorreactores de tanque agitado (STRs) son ampliamente utilizados y se caracterizan por su recipiente cilíndrico con un agitador central que mezcla el medio de cultivo, asegurando una distribución uniforme y un control preciso de la temperatura, el pH, el oxígeno disuelto y la disponibilidad de nutrientes. Los difusores introducen gases para una transferencia de masa gas-líquido eficiente. Aunque ofrecen un control preciso, los STRs pueden generar un alto esfuerzo cortante.<sup>(21)</sup>

Los biorreactores de agitación orbital (OSRs) utilizan la agitación orbital como método de agitación mecánica alternativo en lugar de los impulsores convencionales. Esta tecnología innovadora logra una mezcla efectiva sin el uso de agitadores, siendo adecuada para aplicaciones donde el mezclado suave y sin esfuerzo cortante es esencial.<sup>(21)</sup>

Los biorreactores de onda inducen ondas en bolsas de plástico estériles para una agitación suave y aireación sin burbujas, reduciendo el esfuerzo cortante y siendo adecuados para volúmenes más pequeños y líneas celulares delicadas.<sup>(21)</sup>

Otras técnicas innovadoras incluyen los biorreactores de flujo en espiral (que introducen una corriente helicoidal para reducir las zonas muertas), la aireación con microburbujas (que proporciona una gran superficie para el intercambio de gases y minimiza el esfuerzo cortante), la mezcla acústica (que utiliza ondas sonoras para la mezcla sin intrusión mecánica) y los mezcladores estáticos (formas geométricas dentro de las tuberías que guían los fluidos para una mezcla y homogeneidad eficientes).<sup>(20)</sup>

La diversificación de las tecnologías de mezclado, yendo más allá de los impulsores tradicionales, refleja una comprensión creciente de las necesidades matizadas de los diferentes tipos de células, especialmente las células de mamífero sensibles. Esta especialización en el mezclado es una respuesta directa a la creciente complejidad y valor de los bioproductos, donde mantener la viabilidad celular y la calidad del producto supera la simplicidad de un único enfoque de mezclado. La variedad de tecnologías de mezclado no es arbitraria; es una consecuencia directa de la creciente diversidad y sensibilidad de los sistemas biológicos utilizados en el bioprocesamiento, particularmente para productos de alto valor como las terapias celulares y génicas. Los STRs tradicionales, si bien ofrecen una mezcla y un control robustos, pueden imponer un esfuerzo cortante dañino a las células de mamífero y células madre delicadas. La aparición y adopción de OSRs y biorreactores de onda, con sus mecanismos de agitación más suaves, significan una adaptación crítica para preservar la viabilidad celular y, por extensión, la calidad y el rendimiento del producto. Esta tendencia indica un movimiento hacia entornos de bioproceso adaptados donde las necesidades biológicas específicas del organismo de producción dictan la solución de ingeniería, en lugar de un enfoque único para todos. Esta especialización es esencial para maximizar la producción y la calidad de compuestos biológicos cada vez más complejos y sensibles.<sup>(20,21,22)</sup>

### Consideraciones de Sostenibilidad en el Diseño de Biorreactores

La sostenibilidad se ha convertido en una preocupación primordial en la biofabricación, con un enfoque en la reducción de las emisiones de carbono operativas, el consumo de agua y la generación de residuos plásticos.<sup>(3)</sup>

El diseño de biorreactores incorpora la sostenibilidad a través de:

- **Eficiencia de materiales:** la utilización de materiales reciclados (por ejemplo, el 95 % de acero reciclado en el Biorreactor BioSteel) reduce la huella ecológica y mejora la longevidad y la reciclabilidad.<sup>(20)</sup> Los fabricantes están explorando opciones de reciclaje para los componentes desechados de un solo uso y utilizando polímeros biodegradables.<sup>(5)</sup>
- **Optimización energética:** diseños innovadores como el Biorreactor HelixCore emplean sistemas de agitación helicoidal que reducen el consumo de energía en un 25 % en comparación con los impulsores tradicionales.<sup>(20)</sup>
- **Minimización de residuos:** la integración de sistemas de purificación *in situ* (por ejemplo, el biorreactor PurifyMax con un módulo de filtración incorporado) recicla disolventes y biomasa, reduciendo los residuos a la mitad. La reducción de residuos comienza con la estandarización de los sistemas CIP mediante un diseño que ahorra agua y métodos de recolección de disolventes.<sup>(20)</sup>
- **Conservación del agua:** diseños como el Biorreactor AquaSaver incluyen mecanismos de recaptura de condensación que reutilizan el 90 % del agua evaporada.<sup>(20)</sup>

El creciente énfasis en la sostenibilidad en el diseño de biorreactores no es simplemente una iniciativa de

responsabilidad social corporativa, sino un imperativo económico emergente. Al reducir el consumo de recursos (energía, agua, materiales) y los residuos, el diseño sostenible contribuye directamente a menores costos operativos (OPEX) y, potencialmente, a menores gastos de capital (CAPEX), alineando la gestión ambiental con la rentabilidad empresarial. La impulsión hacia la sostenibilidad en el diseño de biorreactores está cada vez más entrelazada con la viabilidad económica. Si bien las regulaciones ambientales y la responsabilidad corporativa juegan un papel, los beneficios tangibles de la reducción del consumo de energía, agua y materiales se traducen directamente en menores gastos operativos (OPEX). Además, innovaciones como las huellas más pequeñas habilitadas por procesos intensificados (por ejemplo, perfusión) pueden reducir el gasto de capital (CAPEX) para nuevas instalaciones. Por lo tanto, el diseño sostenible está evolucionando de un “deseable” a un “imprescindible” para la ventaja competitiva, ya que mejora tanto el rendimiento ambiental como el resultado final. Esto indica un cambio hacia un enfoque más integrado donde las métricas económicas y ambientales se optimizan en conjunto.<sup>(20,22)</sup>

### Desafíos en el Escalado de Bioprocesos

El escalado de bioprocesos presenta numerosos desafíos, incluyendo el mantenimiento de la consistencia del producto, la garantía de la eficiencia del proceso y el cumplimiento de los requisitos regulatorios.<sup>(23)</sup>

La heterogeneidad es un problema significativo; la transición de la escala de laboratorio a la producción industrial a menudo conduce a la variabilidad en parámetros como la temperatura, el pH y el suministro de nutrientes, lo que afecta la calidad y el rendimiento del producto. El esfuerzo cortante es otro desafío crítico; el aumento de la agitación y la aireación en grandes biorreactores puede dañar las células delicadas, reduciendo la viabilidad y la productividad. Esto requiere un diseño cuidadoso del biorreactor y la optimización de las estrategias de mezclado. La tasa de transferencia de oxígeno (OTR) puede convertirse en un factor limitante en grandes biorreactores debido a la reducción de la relación superficie-volumen, lo que lleva a condiciones anaeróbicas. Se necesitan sistemas de aireación eficientes, vectores de oxígeno o microburbujas para mitigar este problema.<sup>(23)</sup>

La consistencia de la materia prima es fundamental; la variabilidad en la calidad y composición de los materiales de partida puede causar fluctuaciones en el rendimiento del proceso y la calidad del producto, lo que exige una gestión sólida de la cadena de suministro y medidas estrictas de control de calidad. El cumplimiento normativo es riguroso en la industria biofarmacéutica, con estrictas regulaciones para garantizar la seguridad, eficacia y calidad de los productos, lo que implica una documentación exhaustiva, validación y procesos de garantía de calidad. Las consideraciones económicas también son sustanciales, con costos asociados a equipos a gran escala, construcción de instalaciones y validación de procesos. Finalmente, el impacto ambiental de los bioprocesos a gran escala no puede pasarse por alto; el escalado debe minimizar la generación de residuos, el consumo de energía y el uso de recursos, integrando prácticas sostenibles.<sup>(23)</sup>

Los desafíos en el escalado de bioprocesos se centran fundamentalmente en mantener la equivalencia biológica a pesar de los cambios físicos en la escala. Esto significa que los ingenieros deben compensar los cambios no lineales en la transferencia de masa/calor y las fuerzas de cizallamiento, que a menudo son difíciles de predecir y modelar, lo que subraya la necesidad continua de herramientas computacionales sofisticadas y validación empírica. La dificultad principal en el escalado de bioprocesos proviene de la relación no lineal entre el volumen del biorreactor y los parámetros físicos críticos como la transferencia de masa (oxígeno, nutrientes, eliminación de residuos) y las fuerzas de cizallamiento. Si bien la cinética bioquímica es independiente de la escala, el entorno físico cambia drásticamente. Volúmenes mayores conducen inherentemente a relaciones superficie-volumen reducidas, lo que hace que la transferencia de oxígeno y la eliminación de calor sean menos eficientes, y requiere una agitación más vigorosa que, a su vez, aumenta el esfuerzo cortante en las células sensibles. Esto significa que una “duplicación” directa de las entradas no garantiza una duplicación de la producción o el mantenimiento de la calidad del producto. Por lo tanto, un escalado exitoso requiere no solo ajustes de ingeniería, sino una comprensión profunda de cómo estos cambios físicos impactan la biología del sistema, lo que a menudo requiere modelado complejo de dinámica de fluidos computacional (CFD) y una extensa validación empírica para mantener la “equivalencia biológica” en todas las escalas. Esto destaca que el escalado es una interacción compleja de la física de la ingeniería y la respuesta biológica, no una simple extrapolación geométrica.<sup>(6,23)</sup>

### Estrategias de Escalado (Scale-Up vs. Scale-Out)

La escalabilidad es un desafío fundamental en el bioprocesamiento, particularmente en la fabricación basada en el cultivo celular. Los fabricantes eligen entre dos estrategias principales para aumentar la capacidad de producción: el escalado ascendente (scale-up) y el escalado en paralelo (scale-out).<sup>(6)</sup>

El escalado ascendente (scale-up) implica aumentar el tamaño del lote mediante la transición a biorreactores más grandes, un enfoque común en la producción de productos biológicos a escala industrial (anticuerpos monoclonales, vacunas). Requiere una optimización exhaustiva del proceso para mantener la consistencia de

los parámetros clave (transferencia de oxígeno, distribución de nutrientes, control de pH) a volúmenes más altos. Los desafíos incluyen mantener condiciones homogéneas, limitaciones en la transferencia de oxígeno, fuerzas de cizallamiento, distribución de nutrientes y una validación regulatoria compleja. Es ventajoso cuando se necesita un único lote de alto volumen y la aprobación regulatoria para la validación a gran escala es factible.<sup>(6)</sup>

El escalado en paralelo (scale-out) mantiene volúmenes más pequeños pero aumenta la producción ejecutando múltiples matraces o recipientes en paralelo. Es particularmente relevante para la medicina personalizada (terapia celular), donde las terapias de lotes pequeños y específicas para el paciente requieren condiciones altamente controladas. Comúnmente utiliza entornos de fabricación modular con múltiples sistemas de un solo uso a pequeña escala. Los desafíos incluyen complejidades logísticas, mayores demandas de mano de obra, una mayor huella de las instalaciones y mayores costos de control de calidad. Es beneficioso para lotes individualizados, mantener condiciones de cultivo idénticas y flexibilidad en la programación de la producción.<sup>(6)</sup>

La elección estratégica entre el escalado ascendente y el escalado en paralelo refleja una divergencia fundamental en los paradigmas de biofabricación, impulsada por el tipo de producto y la demanda del mercado. El escalado ascendente optimiza la economía de escala para los medicamentos de gran éxito, mientras que el escalado en paralelo prioriza la flexibilidad y la individualización para las terapias personalizadas. Esta bifurcación requiere diseños de instalaciones, estrategias de automatización y enfoques regulatorios distintos, lo que indica una industria madura que se adapta a una cartera de productos diversificada.<sup>(6)</sup>

### Parámetros Críticos para un Escalado Exitoso

Es deseable reproducir el rendimiento del proceso optimizado a pequeña escala en una escala mayor, idealmente sin necesidad de mucha optimización adicional en grandes volúmenes de trabajo. Esto requiere reproducir el entorno de crecimiento de las células u organismos en todas las escalas. La cinética y la termodinámica prácticamente no se ven afectadas por el volumen de reacción, pero la transferencia de masa dentro de un proceso es altamente dependiente de la escala.<sup>(24)</sup>

Los parámetros singulares comunes a controlar incluyen:

- Entrada de potencia constante por volumen de líquido (P/V): esta es probablemente la estrategia más ampliamente aplicada para el escalado, ya que el esfuerzo cortante mecánico, la calidad de la mezcla, la transferencia de masa de oxígeno y la extracción de dióxido de carbono en cultivos aeróbicos dependen de la entrada de potencia específica. Los impulsores con un número de potencia ( $N_p$ ) más alto pueden operar a velocidades más bajas para una mezcla efectiva, lo que minimiza el esfuerzo cortante en las células.<sup>(24)</sup>
- Velocidad de punta constante: la velocidad de punta del impulsor se correlaciona con la velocidad del fluido en la punta del impulsor y, por lo tanto, está relacionada con la fuerza de cizallamiento sobre la célula o el producto biológico. También influye en el tiempo de mezclado y la transferencia de oxígeno. Mantener la velocidad de punta constante mantiene un nivel de fuerza de cizallamiento relativamente constante, pero puede reducir el rendimiento del tiempo de mezclado en recipientes a gran escala. Aumentar la velocidad de punta del impulsor puede utilizarse para mejorar la mezcla al escalar, pero esto puede aumentar el esfuerzo cortante y, por lo tanto, debe limitarse en cultivos con mayor sensibilidad, como las células de mamífero.<sup>(24)</sup>

Otras consideraciones clave para el escalado industrial incluyen:

- Ajuste de la fórmula: los ingredientes pueden comportarse de manera diferente a escalas mayores; los ingredientes difíciles de manejar o peligrosos se convierten en problemas significativos a granel. El abastecimiento y el costo de los ingredientes deben reevaluarse.<sup>(25)</sup>
- Códigos de construcción: comprender los códigos de construcción aplicables es crucial, ya que dictan la ubicación y pueden imponer costos significativos debido a las clasificaciones de peligrosidad.<sup>(25)</sup>
- Selección de equipos: se necesitan equipos nuevos o modificados para lotes más grandes, lo que requiere un análisis exhaustivo de los costos de capital/operación, tamaño, huella, operabilidad y capacidad de limpieza.<sup>(25)</sup>
- Instrumentación y diagnóstico: se necesitan más puntos de recolección de datos a escalas mayores para el monitoreo y la resolución de problemas. La decisión entre el muestreo intermitente o el monitoreo continuo determina las necesidades de instrumentación.<sup>(25)</sup>
- Necesidades de limpieza y esterilización: los métodos difieren significativamente a gran escala e impactan el costo del proyecto. Una limpieza inadecuada puede conducir a un bajo rendimiento o contaminación.<sup>(25)</sup>
- Optimización del proceso: predecir con precisión cómo la modificación de cada componente impactará el rendimiento es crucial, evitando el ensayo y error. El modelado y la simulación de procesos

son herramientas esenciales.<sup>(25)</sup>

Un escalado exitoso no se trata solo de diseñar recipientes más grandes, sino de un enfoque holístico y predictivo que integre principios fundamentales de ingeniería (transferencia de masa/calor) con respuestas biológicas y realidades regulatorias/económicas. El cambio del ensayo y error al modelado y la simulación (gemelos digitales) es fundamental para reducir los riesgos de las operaciones a gran escala y acelerar el tiempo de comercialización. La dificultad central en el escalado de bioprocesos radica en la relación no lineal entre el volumen del biorreactor y los parámetros físicos críticos. Si bien la cinética bioquímica es independiente de la escala, el entorno físico cambia drásticamente. Volúmenes mayores conducen inherentemente a relaciones superficie-volumen reducidas, lo que hace que la transferencia de oxígeno y la eliminación de calor sean menos eficientes, y requiere una agitación más vigorosa que, a su vez, aumenta el esfuerzo cortante en las células sensibles. Por lo tanto, el énfasis en la “entrada de potencia constante por volumen de líquido” y la “velocidad de punta constante” es un intento de ingeniería para mantener condiciones físicas críticas que impactan directamente la salud celular y la productividad.<sup>(26)</sup>

Sin embargo, estos parámetros de ingeniería por sí solos son insuficientes. La necesidad de “ajustar la fórmula”, “seleccionar el equipo adecuado” y “optimizar el proceso” a través de “modelado y simulación de procesos” apunta a un cambio de la resolución reactiva de problemas a un diseño proactivo y basado en datos. La instrucción explícita de “no depender del ensayo y error”<sup>(25)</sup> y la mención de “gemelos digitales”<sup>(26)</sup> revelan que el futuro del escalado exitoso radica en el análisis predictivo y la experimentación virtual. Esto permite reducir los riesgos de grandes inversiones de capital, acelerar los plazos de desarrollo y garantizar una calidad de producto constante antes de comprometerse con la construcción física, haciendo que el escalado sea un proceso más científico y menos empírico.<sup>(27)</sup>

### Intensificación de Procesos para una Producción Mejorada

La intensificación de procesos (PI) es un enfoque transformador destinado a mejorar la eficiencia y la productividad de los bioprocesos, optimizando la utilización de recursos, reduciendo el tiempo de producción y aumentando el rendimiento.<sup>(28)</sup> A menudo implica cambios drásticos en el equipo y/o el diseño del proceso, como pasar del procesamiento por lotes al continuo o integrar nuevos pasos.<sup>(15)</sup>

Para la intensificación del proceso upstream, se puede lograr un aumento de hasta diez veces en el rendimiento utilizando biorreactores de movimiento oscilante, de tanque agitado y habilitados para perfusión.<sup>(28)</sup>

- El cultivo celular por perfusión maximiza la utilización de las instalaciones, mejora la flexibilidad del proceso y minimiza los costos mediante el uso de dispositivos de retención celular y el intercambio continuo de medios para obtener altas densidades celulares y viabilidades durante períodos prolongados. La implementación moderna se simplifica mediante novedosos dispositivos de retención celular, tecnologías de un solo uso y una lógica de control sofisticada.<sup>(15)</sup>
- La perfusión N-1, una forma de intensificación del cultivo semilla, se centra en intensificar el crecimiento celular en el paso del cultivo semilla N-1 antes del biorreactor de producción (N). Esto logra un proceso más rápido y robusto mientras se mantiene un esquema de producción basado en lotes alimentados (fed-batch) existente, lo que lleva a una mayor densidad celular inicial en el biorreactor de producción y tiempos de ejecución acortados. Puede aumentar el rendimiento, ahorrar tiempo, mantener un proceso fed-batch y minimizar el impacto de la validación.<sup>(15)</sup>
- La intensificación del cultivo semilla tiene como objetivo generar cultivos celulares de ultra alta densidad en puntos óptimos durante la expansión celular, utilizando un dispositivo robusto de retención celular antes de la inoculación.<sup>(14)</sup> Reduce el tiempo en el reactor de producción, aumenta el número de lotes por año, acorta los tiempos generales del cultivo semilla, reduce la huella de la planta, aumenta la flexibilidad y disminuye los costos de los bienes vendidos (COGs).<sup>(15)</sup>
- La cosecha de alta productividad (HPH) es una aplicación novedosa que permite la cosecha estéril de un biorreactor fed-batch, preparándolo para el procesamiento en una columna de captura sin centrifugación ni filtración en profundidad. Logra el mismo título de producto en la mitad del tiempo o el doble de producto sin tiempo adicional.<sup>(15)</sup>
- Los sistemas XCell ATF® simplifican e intensifican el bioprocesamiento upstream al proporcionar una alta retención celular, utilizados para la perfusión N-1, HPH, perfusión a largo plazo e intensificación del cultivo semilla.<sup>(15)</sup>
- Los sistemas KrosFlo® TDF® (filtración en profundidad de flujo tangencial) simplifican e intensifican el bioprocesamiento upstream de vectores virales, combinando el flujo tangencial y la filtración en profundidad para una alta densidad celular y una excelente transferencia del producto.<sup>(15)</sup>

Para la intensificación del proceso downstream, se busca reducir los tiempos de procesamiento y los costos con cromatografía de membrana y continua, inactivación viral, SPTFF y otras técnicas.<sup>(28)</sup>

La proliferación de métodos específicos de intensificación (perfusión N-1, HPH, filtración avanzada) indica una optimización granular de cada paso del bioproceso, yendo más allá del biorreactor para abarcar todo el flujo de trabajo. Esto refleja la búsqueda de una industria madura de ganancias marginales que, en conjunto, producen ventajas económicas y operativas significativas. La enumeración detallada de métodos específicos de PI (perfusión N-1, HPH, XCell ATF, KrosFlo TDF) revela que la intensificación de procesos no es un concepto único, sino una estrategia multifacética que aborda cuellos de botella específicos en todo el bioproceso. La perfusión N-1 y la intensificación del cultivo semilla optimizan la expansión celular inicial, proporcionando un inóculo de alta densidad que acorta las corridas de producción posteriores. HPH y las tecnologías de filtración avanzada agilizan la cosecha y purificación, abordando los cuellos de botella tradicionales del procesamiento downstream. Esta optimización granular, paso a paso, habilitada por equipos especializados, significa la búsqueda de una industria madura para maximizar la productividad volumétrica y reducir los pasos sin valor añadido (por ejemplo, limpieza, transferencias manuales). El impacto colectivo de estas intensificaciones individuales es una reducción significativa en la huella total de fabricación, la inversión de capital y los costos operativos, lo que demuestra que la mejora continua en cada etapa es crucial para la ventaja competitiva.<sup>(15,28)</sup>

### Beneficios del Bioprocésamiento Intensificado

La intensificación de procesos ofrece beneficios significativos para diversas organizaciones, incluyendo pequeñas biofarmacéuticas, organizaciones de desarrollo y fabricación por contrato (CDMOs) y grandes empresas farmacéuticas.<sup>(28)</sup>

Los beneficios empresariales incluyen un tamaño de planta miniaturizado, reducción de los gastos de capital (CAPEX) y los gastos operativos (OPEX), fabricación distribuida y un tiempo más rápido desde la investigación hasta la comercialización.<sup>(15)</sup> Puede reducir los costos de los medicamentos para mantener la competitividad.<sup>(28)</sup>

Los beneficios del proceso abarcan mayores densidades celulares, mayor productividad, mejora de los atributos críticos de calidad (CQA) del producto, condiciones de proceso más amplias y procesamiento continuo.

<sup>(15)</sup> Su objetivo es aumentar la productividad y mejorar la eficiencia.<sup>(28)</sup>

Los beneficios ambientales se manifiestan en una reducción del uso de energía, una menor generación de residuos, una disminución del uso de reactivos y una menor huella paisajística.<sup>(15)</sup> Esto conduce a una fabricación biofarmacéutica más sostenible y rentable.<sup>(28)</sup>

La naturaleza multidimensional de los beneficios de la intensificación de procesos (empresariales, de proceso, ambientales) ilustra un cambio hacia una mentalidad de “optimización de valor holística” en la biofabricación. Esto significa que las ganancias de eficiencia ya no se refieren únicamente al rendimiento, sino que abarcan un espectro más amplio de ventajas estratégicas, incluyendo la capacidad de respuesta del mercado, la sostenibilidad y el rendimiento financiero. La lista exhaustiva de beneficios para la intensificación de procesos demuestra que el enfoque de la industria se ha ampliado de simplemente “producir más” a lograr una “optimización holística del valor”. Más allá de las mejoras directas del proceso (mayores densidades celulares, productividad), la PI ofrece ventajas empresariales significativas (reducción de CAPEX/OPEX, tiempo de comercialización más rápido, fabricación distribuida) y ganancias ambientales críticas (reducción de residuos, energía, huella). Esto indica que los biofabricantes están viendo cada vez más sus operaciones a través de una lente estratégica que equilibra la rentabilidad económica, la eficiencia operativa y la gestión ambiental. La capacidad de lograr múltiples beneficios simultáneamente hace que la PI sea una estrategia convincente para la competitividad y la resiliencia a largo plazo en un mercado en rápida evolución.<sup>(28)</sup>

### Cambio de paradigma hacia el bioprocésamiento continuo

El bioprocésamiento continuo representa un cambio de paradigma con respecto a los métodos de procesamiento tradicionales por lotes, permitiendo la producción ininterrumpida, la reducción de la variabilidad de lote a lote, la mejora de la consistencia del producto y la disminución de los costos de producción. El mercado de bioprocésamiento continuo está experimentando un crecimiento notable, con una tasa de crecimiento anual compuesta (CAGR) del 22,4 %, proyectándose de \$ 201 millones en 2022 a \$ 599 millones para 2028. Este enfoque es particularmente evidente en los procesos upstream, donde muchas empresas están implementando sistemas de perfusión continua.<sup>(1,4)</sup>

Las ventajas sobre los sistemas por lotes/fed-batch incluyen tiempos de ciclo reducidos, menores costos de capital y operativos, monitoreo y control en tiempo real, y una consistencia mejorada del producto.<sup>3</sup> Puede lograr hasta un 35 % de ahorro de costos para una producción anual de 100-500 kg en comparación con las técnicas por lotes. Las instalaciones híbridas alcanzan la rentabilidad 2-2,5 años antes.<sup>(18)</sup>

Para abordar las limitaciones de los sistemas por lotes, se reconoce que los sistemas tradicionales luchan por seguir el ritmo de las crecientes demandas, y las condiciones dinámicas pueden llevar a un desequilibrio en el suministro de nutrientes y la acumulación de residuos, afectando la calidad del producto. La baja productividad volumétrica de la fabricación fed-batch requiere grandes instalaciones, lo que aumenta los costos.<sup>(30)</sup>

Existen tipos de fabricación continua: la fabricación híbrida (semicontinua) combina procesos por lotes y

continuos dentro de un único flujo de trabajo de producción, a menudo utilizada en la fabricación clínica en fase temprana para la generación rápida de material. La fabricación totalmente integral (end-to-end) cubre todos los pasos desde el cultivo celular hasta la purificación del producto final, maximizando la eficiencia, los rendimientos y minimizando la huella y los COGs.<sup>(30)</sup>

La transición acelerada al bioprocésamiento continuo es un imperativo estratégico impulsado por las limitaciones del procesamiento por lotes para satisfacer la creciente demanda de productos biológicos de manera eficiente y rentable. Este cambio altera fundamentalmente el diseño de las instalaciones, la logística de la cadena de suministro y la supervisión regulatoria, lo que indica una transformación industrial a largo plazo hacia una fabricación altamente integrada, ágil y optimizada en costos. El cambio a la biofabricación continua no es simplemente una mejora operativa; es una respuesta estratégica a las limitaciones inherentes del procesamiento por lotes en un mercado caracterizado por una alta demanda, presiones de costos y una creciente complejidad del producto. Los beneficios, mayor productividad, menores costos, mayor consistencia y menor huella, permiten colectivamente un modelo de fabricación más ágil y económicamente viable. Este cambio tiene profundos efectos en cadena: requiere nuevos diseños de instalaciones (modulares, más pequeños), impulsa la adopción de automatización avanzada y monitoreo en tiempo real (PAT), y exige que los organismos reguladores se adapten (ICH Q13). En última instancia, el bioprocésamiento continuo facilita una cadena de suministro más receptiva, lo que permite a los fabricantes satisfacer las demandas fluctuantes del mercado de manera más eficiente y rentable, transformando así toda la cadena de valor de la biofabricación.<sup>(30)</sup>

### **Aplicaciones industriales de la producción de compuestos biológicos y bioactivos**

La ingeniería de bioprocesos es fundamental para la producción masiva de biocombustibles, alimentos, biopolímeros, enzimas industriales y productos farmacéuticos. También se aplica a la biotecnología avanzada y a los procesos de tratamiento de agua.<sup>(8)</sup>

En el sector biofarmacéutico, se utiliza para la producción de vacunas, antibióticos y nuevos fármacos, garantizando su seguridad, eficacia y estabilidad.<sup>(7)</sup> La creciente demanda de productos biológicos (anticuerpos monoclonales, terapias celulares y génicas) impulsa la necesidad de soluciones avanzadas. En la alimentación y bebidas, abarca la producción de productos lácteos, bebidas alcohólicas, productos vegetales (salsa de soja, tofu), aditivos alimentarios (sabores, proteínas) e ingredientes como los oligosacáridos. La fermentación mejora la bioactividad, la disponibilidad de nutrientes y el sabor.<sup>(19)</sup>

Para los biocombustibles, la ingeniería de bioprocesos facilita la producción de etanol, biodiésel, butanol, biohidrógeno y biogás utilizando microorganismos en biorreactores. La modificación genética (CRISPR/Cas9) y la ingeniería metabólica mejoran la producción de biocombustibles a partir de residuos agroalimentarios y materiales lignocelulósicos. En aplicaciones ambientales, desempeña un papel importante en el tratamiento de aguas residuales y residuos sólidos, la biorremediación del suelo y la recuperación de minerales, utilizando organismos que consumen contaminantes. Los biofiltros, por ejemplo, eliminan contaminantes del aire. Las enzimas, producidas principalmente a partir de hongos y bacterias, se utilizan en las industrias de la salud, la alimentación, la lavandería, la pulpa y el papel, y los textiles. La manipulación genética permite la producción de diversas enzimas. Finalmente, en nutracéuticos y cosmeceúticos, los compuestos bioactivos de fuentes como *Chlorella vulgaris* están ganando terreno por sus propiedades antiinflamatorias, antioxidantes e inmunomoduladoras.<sup>(19)</sup>

La expansión de la gama de compuestos biológicos y bioactivos producidos mediante bioprocésamiento, desde proteínas terapéuticas hasta materiales sostenibles e ingredientes alimentarios, significa un cambio fundamental hacia una economía basada en la biología. Esta diversificación exige plataformas de bioprocésamiento altamente adaptables y eficientes, capaces de manejar características de producto y requisitos regulatorios variados. La amplitud y creciente complejidad de los compuestos biológicos y bioactivos producidos a través de la ingeniería de bioprocesos subrayan su papel como tecnología habilitadora central para una futura bioeconomía. Esta diversificación significa que las plataformas de bioprocésamiento deben ser cada vez más flexibles y versátiles para adaptarse a diferentes tipos de células, características de productos, requisitos de pureza y vías regulatorias (por ejemplo, alimentos frente a productos farmacéuticos). También implica una creciente demanda de experiencia interdisciplinaria, ya que los ingenieros deben comprender los matices biológicos de cada producto mientras aplican principios de ingeniería universales. La tendencia sugiere que la ingeniería de bioprocesos no se trata solo de mejorar los productos existentes, sino de desbloquear clases completamente nuevas de compuestos sostenibles y beneficiosos para la salud, abordando directamente los desafíos globales.

### **Avances en bioprocesos de producción de proteínas terapéuticas**

Las proteínas terapéuticas son moléculas de origen biológico utilizadas para prevenir, tratar o curar enfermedades, a menudo producidas mediante tecnología de ADN recombinante.<sup>(30,31)</sup>

Las estrategias de optimización incluyen PEGylación, fusión de albúmina, manipulación de aminoácidos y estrategias de glicosilación para optimizar las propiedades y la funcionalidad de las proteínas.<sup>(33)</sup> Las proteínas

de fusión combinan propiedades terapéuticas. Los métodos de producción aprovechan la tecnología de ADN recombinante para una producción eficiente en diversos sistemas de expresión.<sup>(33)</sup> Los sistemas de expresión de células de mamífero son comunes y requieren una gestión aséptica de fluidos para garantizar la esterilidad y la integridad.<sup>(32)</sup>

La gestión aséptica de fluidos es esencial en todo el recorrido del fluido para prevenir la contaminación y el estrés físico, especialmente con los cambios en el tamaño del volumen. Se están adoptando cada vez más procesos modulares y cerrados. Las tecnologías de un solo uso desempeñan un papel crucial en la optimización de la producción, incluyendo el llenado (por ejemplo, RoSS.FILL), la congelación (por ejemplo, RoSS.pFTU para un control preciso, minimizando los cristales de hielo) y el almacenamiento (por ejemplo, RoSS® Shell para protección, RoSS.ULTF para almacenamiento ultrafrío). Estas tecnologías eliminan los largos procesos de limpieza y esterilización, reducen el riesgo de contaminación y permiten cambios rápidos de producto.<sup>(33)</sup>

Los avances en la producción de proteínas terapéuticas, particularmente la integración de tecnologías de un solo uso con la gestión aséptica de fluidos y la criopreservación, representan un movimiento estratégico hacia la fabricación de sistemas cerrados de principio a fin. Esto aborda la necesidad crítica de esterilidad, consistencia y flexibilidad para productos biológicos de alto valor, a menudo específicos para el paciente, reduciendo el riesgo de todo el ciclo de vida de la producción, desde el cultivo celular hasta la entrega del producto final. El impacto de la IA en el bioprocesamiento trasciende la simple automatización al permitir una transición del control reactivo a la optimización predictiva y prescriptiva. Al analizar conjuntos de datos complejos y multivariados, la IA puede descubrir correlaciones ocultas, anticipar desviaciones antes de que ocurran (mantenimiento predictivo) y recomendar ajustes óptimos en tiempo real (control dinámico). Esta capacidad transforma el desarrollo de procesos de experimentación iterativa a simulación y optimización virtual (gemelos digitales), acelerando significativamente los plazos y reduciendo el riesgo. La implicación final es el desarrollo de instalaciones de biofabricación cada vez más autónomas y auto-optimizadas que pueden adaptarse a condiciones cambiantes, mantener una calidad constante y lograr niveles de eficiencia sin precedentes con una intervención humana mínima.<sup>(30)</sup>

### Optimización de la Síntesis de Compuestos Bioactivos (ej., fermentación de *Chlorella vulgaris*)

Los compuestos bioactivos desempeñan un papel fundamental en la salud humana, con aplicaciones en nutracéuticos, biofarmacéuticos, biosurfactantes, bioestimulantes y cosmecéuticos. La investigación multidisciplinaria que integra bioquímica, biología molecular e ingeniería de bioprocesos es crucial. Se han empleado enfoques de ingeniería para mejorar las propiedades biológicas y los rendimientos.<sup>(32)</sup>

Un caso de estudio notable es la fermentación de *Chlorella vulgaris*. Esta microalga verde unicelular está ganando una atención significativa debido a su alto contenido de proteínas y la abundancia de compuestos bioactivos.<sup>(19)</sup>

- Para la mejora de la cepa, se utilizan la ingeniería genética (CRISPR-Cas9, transformación de cloroplastos), la optimización metabólica (sobreexpresión de enzimas clave, redirección de flujos metabólicos), la mutagénesis y la evolución adaptativa para mejorar las vías metabólicas y la productividad. Los enfoques ómicos proporcionan una comprensión integral para la ingeniería dirigida.<sup>(19)</sup>
- En cuanto a las técnicas de fermentación, los avances en estrategias de fermentación de alta densidad, la evolución adaptativa de las cepas y los sistemas de monitoreo en tiempo real han mejorado enormemente la eficiencia, la escalabilidad y la sostenibilidad. Se utilizan tanto la fermentación sumergida como la de estado sólido, junto con procesos de fermentación mixta. La adaptabilidad de *C. vulgaris* a diversas fuentes de carbono en el cultivo heterotrófico mejora las tasas de crecimiento y los rendimientos de biomasa.<sup>(19)</sup>
- El diseño y optimización de biorreactores se centran en mejorar la penetración de la luz, el intercambio de gases y la distribución de nutrientes para cultivos de alta densidad. El control preciso del pH, la temperatura, el suministro de nutrientes y la aireación es fundamental.<sup>(19)</sup>
- Las tecnologías de monitoreo avanzadas proporcionan datos en tiempo real para el ajuste dinámico de las condiciones ambientales.<sup>(19)</sup>
- El procesamiento downstream utiliza métodos de extracción avanzados (asistida por ultrasonidos, asistida por microondas, extracción con fluidos supercríticos) y la integración de procesos (enfoque de biorrefinería) maximiza la utilidad al generar múltiples productos valiosos.<sup>(19)</sup>

La optimización de la síntesis de compuestos bioactivos, ejemplificada por *Chlorella vulgaris*, muestra un enfoque de “biofundición” altamente integrado que combina ingeniería biológica avanzada (mejora de cepas, ómicas) con ingeniería de bioprocesos sofisticada (fermentación, diseño de biorreactores, monitoreo en tiempo real, procesamiento downstream avanzado). Esta estrategia holística es esencial para liberar todo el potencial de los biorrecursos naturales y lograr una producción económicamente viable y sostenible de diversos compuestos de alto valor. El enfoque detallado para optimizar la síntesis de compuestos bioactivos,

como se demuestra con *Chlorella vulgaris*, ejemplifica un modelo sofisticado de “biofundición”. Este no es una optimización lineal, sino un proceso altamente iterativo e integrado donde los avances en la ingeniería biológica upstream (por ejemplo, CRISPR-Cas9 para la mejora de cepas, ómicas para la comprensión de las vías metabólicas) informan directamente y son habilitados por los avances en la ingeniería de bioprocesos (por ejemplo, fermentación de alta densidad, diseño de biorreactores a medida, control en tiempo real). El objetivo es crear “fábricas de células microbianas” altamente eficientes que puedan producir los compuestos deseados a escala. El énfasis en la “eficiencia, escalabilidad y sostenibilidad”<sup>(19)</sup> a través de este enfoque integrado destaca que la maximización de la producción de compuestos bioactivos requiere una perspectiva holística de ingeniería a nivel de sistemas, desde el gen hasta el biorreactor y la purificación, para lograr la viabilidad comercial y la responsabilidad ambiental.

### Direcciones Futuras y Tecnologías Emergentes en Ingeniería de Bioprocesos

La industria del bioprocesamiento y el sector de la bioproducción continuarán su rápida transformación.<sup>(33)</sup> Las tendencias futuras incluyen:

- Hiperpersonalización: fabricación en tiempo real de terapias específicas para cada paciente.<sup>(33)</sup>
- Productos biológicos diseñados por IA: aceleración del descubrimiento de fármacos y la evaluación de la capacidad de fabricación.<sup>(33)</sup>
- Biofabricación sin células: sistemas portátiles y bajo demanda para ubicaciones remotas.<sup>(33)</sup>
- Producción descentralizada: microfábricas cerca del punto de atención para productos biológicos críticos.<sup>(33)</sup>
- Biologics 2.0: Nuevas modalidades como terapias de edición de ARN, exosomas y células sintéticas.<sup>(33)</sup>
- Sostenibilidad: enfoque continuo en la reducción del impacto ambiental, incluyendo estrategias de bioprocesamiento ecológico.<sup>(33)</sup>
- Nuevos reactores electroquímicos: para una producción eficiente de hidrógeno y captura/entrega de CO<sub>2</sub>.<sup>(33)</sup>
- Procesamiento catalítico de polímeros y reciclaje: conversión de residuos plásticos en productos de mayor valor.<sup>(33)</sup>
- Nanodispositivos: para aplicaciones médicas, por ejemplo, para interrumpir las placas de Alzheimer.<sup>(33)</sup>
- Biología sintética: permite la ingeniería de microorganismos y células con capacidades mejoradas, creando bioprocesos personalizados para productos novedosos.<sup>(33)</sup>
- Análisis y modelado avanzados: herramientas computacionales y algoritmos de aprendizaje automático para conjuntos de datos complejos, prediciendo resultados y optimizando el diseño.<sup>(33)</sup>

El futuro de la ingeniería de bioprocesos se caracteriza por una radical descentralización y personalización de la fabricación, impulsada por la ingeniería biológica avanzada (biología sintética, Biologics 2.0) y habilitada por sistemas portátiles impulsados por IA. Esto sugiere un cambio de grandes instalaciones centralizadas a redes de fabricación ágiles y distribuidas, lo que altera fundamentalmente la cadena de suministro biofarmacéutica y la accesibilidad de las terapias. El énfasis en la “hiperpersonalización” y la “producción descentralizada” indica que la biofabricación se está moviendo hacia un modelo donde los productos se fabricarán más cerca del paciente y en lotes más pequeños y específicos.<sup>(33)</sup>

### CONCLUSIONES

La ingeniería de bioprocesos se encuentra en la vanguardia de la innovación, impulsando una transformación fundamental en la producción de compuestos biológicos y bioactivos. La industria ha evolucionado de manera significativa, pasando de procesos por lotes a sistemas continuos y altamente integrados, lo que ha permitido una eficiencia sin precedentes, una reducción de costos y una mejora en la calidad del producto.

La adopción de sistemas de un solo uso, combinada con la automatización y la inteligencia artificial, ha creado un paradigma de “fábrica inteligente y flexible”. Esta sinergia no solo agiliza los tiempos de configuración y reduce los riesgos de contaminación, sino que también permite un monitoreo y control en tiempo real, lo que es crucial para la producción de terapias avanzadas y personalizadas. La intensificación del cultivo celular de alta densidad y las estrategias de intensificación del cultivo semilla demuestran un enfoque estratégico para optimizar las etapas iniciales del proceso, lo que tiene un efecto multiplicador positivo en la eficiencia y la rentabilidad de toda la cadena de valor. La revitalización del cultivo por perfusión subraya la capacidad de la industria para reevaluar y adaptar tecnologías existentes para satisfacer las demandas modernas de alta productividad, menor huella y sostenibilidad.

En el diseño de biorreactores, la transición hacia “microambientes inteligentes y adaptables” refleja una comprensión profunda de las necesidades biológicas específicas de los organismos de producción. La diversificación de las tecnologías de mezclado y aireación, junto con un fuerte énfasis en la sostenibilidad, demuestra un compromiso con la optimización no solo del rendimiento, sino también del impacto ambiental y

económico.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Leadvent Group. The Future of Bioprocessing: Emerging Trends and Technologies. <https://www.leadventgrp.com/blog/the-future-of-bioprocessing-emerging-trends-and-technologies>
2. EBSCO. Bioprocess Engineering. <https://www.ebsco.com/research-starters/engineering/bioprocess-engineering>
3. PharmaFocus America. Bioprocessing & Bioproduction In-Depth Focus 2025. <https://www.pharmafocusamerica.com/articles/bioprocessing-bioproduction-in-depth-focus-2025>
4. Single-Use Bioreactors Market Sizing. Towards Healthcare; 2025 May 09. <https://www.towardshealthcare.com/insights/single-use-bioreactors-market-sizing>
5. Towards Healthcare. Single-Use Bioreactors Market Challenges & Solution in Biomanufacturing. 2025 May 09. <https://www.towardshealthcare.com/insights/single-use-bioreactors-market-sizing>
6. Green Elephant Biotech. Scale-Up vs. Scale-Out in Bioprocessing. <https://www.greenelephantbiotech.com/post/scale-up-vs-scale-out-in-bioprocessing>
7. Extrapolate. Bioprocess Technology Powering Innovation. 2024 Mar 14. <https://www.extrapolate.com/blog/bioprocess-technology-powering-innovation>
8. Taylor & Francis. Bioprocess engineering. [https://taylorandfrancis.com/knowledge/Engineering\\_and\\_technology/Biomedical\\_engineering/Bioprocess\\_engineering/](https://taylorandfrancis.com/knowledge/Engineering_and_technology/Biomedical_engineering/Bioprocess_engineering/)
9. Demcon Life Sciences Health. Cell culture equipment. <https://lifescienceshealth.demcon.com/showcases/cell-culture-equipment>
10. BCC Research. Bioprocess Optimization and Digital Bio-Manufacturing: Transforming the Industry.; 2025 Jan 10. <https://blog.bccresearch.com/bioprocess-optimization-and-digital-bio-manufacturing-transforming-the-industry>
11. Bioprocessing Summit. The Bioprocessing Summit. Cell Culture. <https://www.bioprocessingsummit.com/24/cell-culture>
12. IDBS. Enhancing Process Performance with AI in Bioprocessing. 2025 May 22. <https://www.idbs.com/knowledge-base/enhancing-process-performance-with-ai-in-bioprocessing/>
13. Bordeaux, M., de Girval, D., Rullaud, R., Subileau, M., Dubreucq, E., Drone, J. (2014). High-cell-density cultivation of recombinant Escherichia coli, purification and characterization of a self-sufficient biosynthetic octane -hydroxylase. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(14),6275-6283. DOI: 10.1007/s00253-014-5671-1
14. SUSupport. Seed Train Intensification: Next Step Biopharma. 2024 Nov 28. <https://www.susupport.com/knowledge/manufacturing-processes/bioprocessing/seed-train-intensification-next-step-biopharma>
15. Repligen. Process Intensification. 2025. <https://www.repligen.com/solutions/process-intensification>
16. Eppendorf. Batch, Fed-Batch, and Continuous Culture. <https://www.eppendorf.com/hu-en/lab-academy/applied-industries/bioprocessing/introduction-to-bioprocessing/batch-fed-batch-and-continuous-culture/>
17. Muiznieks L. Perfusion for Live Cell Imaging: A Review. Elveflow. <https://www.elveflow.com/microfluidic-reviews/perfusion-for-live-cell-imaging-a-review/>
18. Gupta P, Kateja N, Mishra S, Kaur H, Rathore AS. Economic assessment of continuous processing for manufacturing of biotherapeutics. *Biotechnol Prog.* 2021 Mar;37(2):e3108. doi: 10.1002/btpr.3108.

19. Mendes AR, Spínola MP, Lordelo M, Prates JAM. Advances in Bioprocess Engineering for Optimising *Chlorella vulgaris* Fermentation: Biotechnological Innovations and Applications. *Foods*. 2024; 13(24):4154. <https://doi.org/10.3390/foods13244154>
20. FasterCapital. Bioreactor design: Enhancing Bioreactor Performance through Innovative Design Approaches. 2025 Apr 08. <https://www.fastercapital.com/content/Bioreactor-design--Enhancing-Bioreactor-Performance-through-Innovative-Design-Approaches.html>
21. Mabion. Bioprocess Operation Modes and Advanced Bioreactor Technology. <https://www.mabion.eu/science-hub/articles/bioprocess-operation-modes-and-advanced-bioreactor-technology/>
22. IDBS. Challenges in Scaling Up Bioprocesses in Bioprocessing. 2025 May 22. <https://www.idbs.com/knowledge-base/challenges-in-scaling-up-bioprocesses-in-bioprocessing/>
23. Eppendorf. Bioprocessing Scale-Up. <https://www.eppendorf.com/id-en/lab-academy/applied-industries/bioprocessing/introduction-to-bioprocessing/bioprocessing-scale-up/>
24. Key Considerations for Industrial Bioprocess Scale-Up. CRB Group. <https://www.crbgroup.com/insights/biotechnology/industrial-biotechnology>
25. Bioprocessing Summit. Digital Transformation and AI in Bioprocess. <https://www.bioprocessingsummit.com/digital-transformation>
26. Eppendorf. Cell Culture in Bioreactors. <https://www.eppendorf.com/us-en/lab-academy/applied-industries/bioprocessing/introduction-to-bioprocessing/cell-culture-in-bioreactors/>
27. Process Intensification. Sartorius. <https://www.sartorius.com/en/applications/biopharmaceutical-manufacturing/process-intensification>
28. Xu J, Xu X, Huang C, Angelo J, Oliveira CL, Xu M, Xu X, Temel D, Ding J, Ghose S, Borys MC, Li ZJ. Biomufacturing evolution from conventional to intensified processes for productivity improvement: a case study. *MAbs*. 2020 Jan 1;12(1):1770669. doi: 10.1080/19420862.2020.1770669.
29. Evotec. The Promise of Continuous Processing to Advance Biopharmaceutical Production. <https://www.evotec.com/en/sciencepool/the-promise-of-continuous-processing-to-advance-biopharmaceutical-production>
30. Sridhar K, Inbaraj BS, Sharma M. Advancing Natural Bioactive Formulations: Innovations in Agri-Food-Pharma for Enhanced Health and Sustainability. *Bioengineering (Basel)*. 2025 Apr 11;12(4):405. doi: 10.3390/bioengineering12040405. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC12024521/>
31. SUSupport. Introduction to Therapeutic Proteins. 2024 Apr 10. <https://www.susupport.com/knowledge/biopharmaceutical-products/vaccines/introduction-therapeutic-proteins>
32. TECNIC. What is Upstream and Downstream Bioprocess?. <https://www.tecnic.eu/what-is-upstream-and-downstream-bioprocess/>
33. Argonne National Laboratory. Bioprocess Engineering. <https://www.anl.gov/topic/science-technology/bioprocess-engineering>

#### **FINANCIACIÓN**

Ninguna.

#### **CONFLICTO DE INTERESES**

Ninguno.

#### **CONTRIBUCIÓN DE AUTORÍA**

*Conceptualización:* Freddy Ednildon Bautista-Vanegas, Pablo Carías, Luis Mariano Tecuatl Gómez, Rebeca Rocio Gomez Rosales, Themis Karim Ocampo Gamboa, Jhossmar Cristians Auza-Santivañez, Estefannie Eunice

Valverde Fernández, Blas Apaza-Huanca, Ingrid Neysa Cabezas-Soliz, Jose Luis Diaz-Guerrero, Ruben Marco Antonio Soliz-Mendoza.

*Curación de datos:* Freddy Ednildon Bautista-Vanegas, Pablo Carías, Luis Mariano Tecuatl Gómez, Rebeca Rocio Gomez Rosales, Themis Karim Ocampo Gamboa, Jhossmar Cristians Auza-Santivañez, Estefannie Eunice Valverde Fernández, Blas Apaza-Huanca, Ingrid Neysa Cabezas-Soliz, Jose Luis Diaz-Guerrero, Ruben Marco Antonio Soliz-Mendoza.

*Análisis formal:* Freddy Ednildon Bautista-Vanegas, Pablo Carías, Luis Mariano Tecuatl Gómez, Rebeca Rocio Gomez Rosales, Themis Karim Ocampo Gamboa, Jhossmar Cristians Auza-Santivañez, Estefannie Eunice Valverde Fernández, Blas Apaza-Huanca, Ingrid Neysa Cabezas-Soliz, Jose Luis Diaz-Guerrero, Ruben Marco Antonio Soliz-Mendoza.

*Investigación:* Freddy Ednildon Bautista-Vanegas, Pablo Carías, Luis Mariano Tecuatl Gómez, Rebeca Rocio Gomez Rosales, Themis Karim Ocampo Gamboa, Jhossmar Cristians Auza-Santivañez, Estefannie Eunice Valverde Fernández, Blas Apaza-Huanca, Ingrid Neysa Cabezas-Soliz, Jose Luis Diaz-Guerrero, Ruben Marco Antonio Soliz-Mendoza.

*Metodología:* Freddy Ednildon Bautista-Vanegas, Pablo Carías, Luis Mariano Tecuatl Gómez, Rebeca Rocio Gomez Rosales, Themis Karim Ocampo Gamboa, Jhossmar Cristians Auza-Santivañez, Estefannie Eunice Valverde Fernández, Blas Apaza-Huanca, Ingrid Neysa Cabezas-Soliz, Jose Luis Diaz-Guerrero, Ruben Marco Antonio Soliz-Mendoza.

*Software:* Freddy Ednildon Bautista-Vanegas, Pablo Carías, Luis Mariano Tecuatl Gómez, Rebeca Rocio Gomez Rosales, Themis Karim Ocampo Gamboa, Jhossmar Cristians Auza-Santivañez, Estefannie Eunice Valverde Fernández, Blas Apaza-Huanca, Ingrid Neysa Cabezas-Soliz, Jose Luis Diaz-Guerrero, Ruben Marco Antonio Soliz-Mendoza.

*Supervisión:* Freddy Ednildon Bautista-Vanegas, Pablo Carías, Luis Mariano Tecuatl Gómez, Rebeca Rocio Gomez Rosales, Themis Karim Ocampo Gamboa, Jhossmar Cristians Auza-Santivañez, Estefannie Eunice Valverde Fernández, Blas Apaza-Huanca, Ingrid Neysa Cabezas-Soliz, Jose Luis Diaz-Guerrero, Ruben Marco Antonio Soliz-Mendoza.

*Redacción - borrador original:* Freddy Ednildon Bautista-Vanegas, Pablo Carías, Luis Mariano Tecuatl Gómez, Rebeca Rocio Gomez Rosales, Themis Karim Ocampo Gamboa, Jhossmar Cristians Auza-Santivañez, Estefannie Eunice Valverde Fernández, Blas Apaza-Huanca, Ingrid Neysa Cabezas-Soliz, Jose Luis Diaz-Guerrero, Ruben Marco Antonio Soliz-Mendoza.

*Redacción - revisión y edición:* Freddy Ednildon Bautista-Vanegas, Pablo Carías, Luis Mariano Tecuatl Gómez, Rebeca Rocio Gomez Rosales, Themis Karim Ocampo Gamboa, Jhossmar Cristians Auza-Santivañez, Estefannie Eunice Valverde Fernández, Blas Apaza-Huanca, Ingrid Neysa Cabezas-Soliz, Jose Luis Diaz-Guerrero, Ruben Marco Antonio Soliz-Mendoza.