

Estado de la publicación: El preprint ha sido enviado para publicación en revista

# Análisis técnico - económico de una planta de producción peruana de vacunas ARN contra el COVID-19.

Jorge Bendezu, Sharmely Zanabria, Henri Bailón Calderón, Sandra Morales Ruiz

<https://doi.org/10.1590/SciELOPreprints.3532>

Enviado en: 2022-01-27

Postado en: 2022-01-31 (versión 1)

(AAAA-MM-DD)

1 **Análisis técnico - económico de una planta de producción peruana de vacunas ARN contra el**  
2 **COVID-19.**

3 *Technical - economic analysis of a Peruvian RNA vaccine production plant against COVID-19.*

5 **Análisis técnico-económico de una planta productora de vacunas ARN en Perú**

7 Jorge Bendezu<sup>1,2,a</sup> (<https://orcid.org/0000-0001-7102-3144>)

8 Sharmely Zanabria<sup>4,b</sup> (<https://orcid.org/0000-0002-4479-5816>)

9 Henri Bailón Calderón<sup>5,c</sup> (<https://orcid.org/0000-0002-9593-6092>)

10 Sandra Morales Ruiz<sup>1,d</sup> (<https://orcid.org/0000-0003-0986-0798>)

12 1 BIOTRANSFER SAC. Lima, Perú

13 2 Escuela Universitaria de Posgrado, Universidad Nacional Federico Villareal.

14 4 Innovaciones Tecnológicas HASSO GROUP. Lima, Perú

15 5 Laboratorio de Referencia Nacional de Biotecnología y Biología Molecular del Instituto Nacional de  
16 Salud. Lima, Perú

18 <sup>a</sup> Biólogo, Dr. Sc.; <sup>b</sup> Químico Farmacéutico, MSc; <sup>c</sup> Biólogo, MSc; <sup>d</sup> Bióloga, MSc.

20 **Contribuciones de los autores:** Todos los autores conceptualizaron el estudio, JB diseñó la metodología y SZ y SMR  
21 condujeron la investigación, JB analizó e interpretó los datos, JB y SMR redactaron el borrador inicial, y todos los  
22 autores redactaron y revisaron la versión final. JB y ZS gestionó el financiamiento y suministró los recursos para la  
23 investigación. JB gestionó las actividades de la investigación. Todos los autores asumen la responsabilidad por el  
24 artículo.

26 **Financiamiento:** El presente trabajo ha sido financiado por las empresas BIOTRANSFER SAC e Innovaciones  
27 Tecnológicas HASSO GROUP.

29 **Conflictos de interés:** JB y SMR son empleados de la empresa BIOTRANSFER SAC y ZS es empleada de la empresa  
30 Innovaciones Tecnológicas HASSO GROUP.

31 **Correspondencia:** Jorge Bendezu; [eduar156@yahoo.es](mailto:eduar156@yahoo.es)

32 **Análisis técnico - económico de una planta de producción peruana de vacunas ARN contra el**  
33 **COVID-19.**

34

35 **RESUMEN**

36

37 **Objetivo:** Realizar un análisis técnico-económico de una planta de producción de vacunas ARN contra el COVID-19  
38 para cubrir la demanda local peruana. **Materiales y métodos:** Con el uso de un software especializado en bioprocesos  
39 y costeos de recursos locales se logró simular un proceso de producción compuesto: i) Manufactura primaria (Síntesis  
40 de ARN, purificación empleando filtración tangencial, cromatografía de exclusión por tamaño y encapsulamiento  
41 lipídico (ARN-LNP); lo cual permitió producir hasta 0.019Kg de ARN-LNP/lote; y ii) Manufactura Secundaria  
42 (dispensación y llenado de viales). De esta forma se calcularon costos de inversión fijo (CaPex), costos operativos por  
43 lote (OpEx) y costos de envasado (CE). **Resultados:** En base al modelo simulado, para cubrir la demanda total (32.6  
44 millones de ciudadanos → 100 millones de dosis → ~3Kg de ARN sintético) se requerirán de 160 lotes producidos  
45 en un periodo de 10 meses en una sola facilidad. La inversión total estimada para la planta es de US\$791.2 millones:  
46 CaPex [US\$91.5 millones (68.8% corresponden a acciones de validación e inicio de actividades)]; un OpEx por lote  
47 [US\$4.14 millones (97.7% asociados a gastos de insumos)] lo que ascenderían un monto de US\$662.7 millones (160  
48 lotes) y un CE: US\$37 millones. El costo estimado por dosis fue calculado en US\$7.91. **Conclusiones:** La simulación  
49 de bioprocesos nos brinda una aproximación del componente técnico-económico para establecer oportunidades de  
50 inversión en una planta productora de vacunas de ARN en el Perú, sirviendo como insumo para otras plantas  
51 productoras de biológicos que cubran las demandas de salud pública nacional.

52

53 **Palabras claves:** *Vacuna COVID-19; ARN; Reacciones Biológicas; Biorreactores; Costos y Análisis de Costo;*  
54 *Industria Farmacéutica. (Fuente: DeCS).*

55

56

57

58

59

60

61

62

63 **ABSTRACT**

64 **Objective:** To carry out a technical-economic analysis of a plant for the production of RNA vaccines against COVID-  
65 19 to cover the local Peruvian demand. **Materials and methods:** With the use of a specialized software in bioprocesses  
66 and local resource costs, it was possible to simulate a whole bioprocess: i) Primary manufacturing (RNA synthesis,  
67 purification using tangential filtration, size exclusion chromatography and lipid encapsulation (RNA-LNP), which  
68 allowed to produce up to 0.019Kg of RNA-LNP/batch; and ii) Secondary Manufacturing (dispensing and filling of  
69 vials). In this way, fixed investment costs (CaPex), operating costs per batch (OpEx) and packaging costs (CE) were  
70 calculated. **Results:** Based on the simulated model, to cover the total demand (32.6 million Peruvian citizens → 100  
71 million doses → ~ 3Kg of synthetic RNA) will require 160 batches produced in a period of 10 months in a single  
72 facility. The total investment estimated for the plant is US\$791.2 million: CaPex [US \$ 91.5 million (68.8% correspond  
73 to validation actions and *start-up* activities)]; OpEx per lot [US \$ 4.14 million (97.7% associated with input costs)]  
74 which would amount to US\$ 662.7 million (160 lots) and one CE: US \$ 37 million. The estimated cost per dose was  
75 calculated at US\$ 7.91. **Conclusions:** The simulation of bioprocesses gives us an approximation of the technical-  
76 economic component to establish investment opportunities in a plant that produces RNA vaccines in Peru, serving as  
77 an input for other plants that produce biologics that meet the demands of national public health.

78

79 **Keywords:** *COVID-19; Nucleic Acid-Based Vaccines; RNA; Biological reactions; Bioreactors; Costs and Cost*  
80 *Analysis; Pharmaceutical Industry (Source: MeSH).*

81

82

83

84 **MENSAJE CLAVE:**

85 **Motivos para realizar el estudio:** Las vacunas son una herramienta importante en la lucha contra la pandemia  
86 mundial y en la actualidad se conocen múltiples tecnologías para su producción, entre ellas las basadas en ARN. Sin  
87 embargo, no se tienen claros los costos de implementación y de producción de una planta biotecnológica de vacunas  
88 ARN contra el COVID-19 que pueda cubrir la demanda peruana. **Principales hallazgos:** Mediante el uso de  
89 simuladores de procesos productivos se logró modelar los costos de inversión totales que ascenderían a US\$791.2  
90 millones y a un costo por dosis vacunal de US\$ 7.91. **Implicancias:** Este tipo de análisis técnicos y económicos  
91 permiten brindar una mejor perspectiva para futuras políticas de prevención y acción frente a los problemas de salud  
92 pública peruana.

93

94

## 95 INTRODUCCIÓN

96 La pandemia ocasionada por el SARS-COV-2 ha creado una ventana de oportunidad para que surjan nuevas  
97 tecnologías de vacunas que han demostrado una rápida capacidad de colocar productos en el mercado biofarmacéutico  
98 mundial en periodos menores a un año (1-3) a diferencia del proceso normal de las vacunas pre pandemia que tomaban  
99 entre 8 a 14 años (4-6). Es así como las vacunas que emplean ARN sintético y encapsulados en nanopartículas de  
100 lípidos (ARN-LNP) se han ubicado dentro de las vacunas con mayor capacidad productiva y las que han mostrado  
101 una mejor respuesta frente una emergencia mundial, tal es así que una pequeña planta de producción ubicada en  
102 Marburg - Alemania que nunca había empleado la tecnología de ARN se convirtió en menos de 6 meses en uno de los  
103 principales centros de producción de vacunas ARN para la empresa Pfizer (7).

104

105 Las vacunas de ARN emplean la capacidad natural de las células humanas para expresar proteínas para lo cual la  
106 información genética contenida en la secuencia de ARN la cual es trasladada por la vacuna y que corresponde a una  
107 secuencia de la proteína espícula del virus SARS-COV-2 es luego decodificada por los ribosomas y transformada a  
108 proteína dentro de la célula con la cual se induce a una respuesta inmunitaria protectora frente al virus (1, 3, 8); este  
109 principio puede ser similar a las vacunas que emplean un vector viral como es el caso de las basadas en adenovirus  
110 (Sputnik, Astrazeneca, Cansino y Janssen); sin embargo, la diferencia radica en la características de los bioprocesos  
111 para obtener cada una de las vacunas ya que en el caso de las vacunas adenovirales se requiere de un proceso enfocado  
112 en la producción del adenovirus en masa el cual demanda pasos de escalamiento en reactores dentro de la etapa  
113 conocida como *upstream* (9, 10) y luego de ello requieren de una serie de pasos para asegurar la potencia, cantidad y  
114 calidad de las partículas virales infectivas y sus costos de producción dependerán de ajustar parámetros productivos  
115 afectados por múltiples variables como las líneas celulares, inóculo viral, tipo de biorreactor, entre otros (7, 11).

116

117 Las vacunas de ARN se caracterizan por presentar un proceso simple ya que su producción sólo demanda del sistema  
118 de reacción para que los insumos químicamente definidos como los plásmidos, enzimas, nucleótidos, sales, entre otros  
119 puedan reaccionar; esto permite que estos materiales sean factibles de estandarizarse de forma similar a un protocolo  
120 de una Reacción en Cadena de la Polimerasa, evitándose así el factor variable y complejo como es la presencia de  
121 células. Además, la producción de dosis es rápida y presenta hasta cuatro veces la magnitud productiva que presentan  
122 las vacunas producidas en células; de esta forma se logran producir lotes de forma rápida con espacios de entre 3 a 7  
123 días (1, 7, 12). A nivel de equipamiento los sistemas son de menor orden a lo que el escalado se refiere, ya que al ser  
124 reacciones químicas que producen millones de moléculas en volúmenes cercanos al litro, sólo se requieren  
125 biorreactores que pueden ir desde 1 hasta los 50 litros a diferencia de los que demandan los sistemas celulares que  
126 necesitan biorreactores de hasta 2,000 litros (13, 14); esto conlleva claramente a un menor gasto de inversión a nivel  
127 de equipos y su infraestructura en lo que producción de moléculas de ARN se refiere. Además de ello esta tecnología  
128 permite adaptarse rápidamente a nuevas variantes e incluso nuevos virus; ya que el punto de intercambio se da en la

129 secuencia contenida en el plásmido de ADN que se emplea como molde para producir el ARN sintético mientras que  
130 el resto de materiales, consumibles entre otros es similar durante la producción (1, 2).

131

132 Ante la demanda mundial por vacunas contra el SARS-COV-2 han surgido reportes que muestran la simulación del  
133 bioproceso para la obtención de vacunas ARN en cantidades suficientes para cubrir la demanda global, la cual  
134 considera aspectos de procesos de producción, costos, escalamientos, inversión y el tiempo necesario para producir y  
135 cubrir la cantidad demandada por vacunas, generándose así análisis técnicos económicos bastante completos (1, 2, 15,  
136 16). Empleando este tipo de análisis se pueden estimar costos de las instalaciones de plantas productivas (diseños,  
137 desarrollo de procesos a escala de laboratorio, lotes pilotos, instalación de facilidades, equipamiento, testeo y  
138 validación) los cuales para el caso de las vacunas de ARN pueden demandar una inversión de entre US \$ 10 a US \$  
139 50 millones con un tiempo entre los 2 y 4 años a costos por vacuna entre US \$ 0,5 y US \$ 2,5 considerando el mercado  
140 americano, a diferencia que las plantas convencionales basadas en células cuyo costo puede ir desde los US \$ 400  
141 hasta los US \$ 700 millones y pueden tomar hasta 9 años de implementación (6, 7, 17, 18).

142

143 Una aproximación del proceso de producción de vacunas en países en desarrollo fue estimada durante tiempos  
144 prepandemia (6), considerando el costo de las dosis a un valor de US \$ 2,18 con rangos que iban para vacunas  
145 multidosis de hasta US \$ 0,98 y US \$ 4,85 para vacunas nuevas; sin embargo, estas simulaciones fueron elaboradas  
146 en base a vacunas que emplean las células como matriz productiva.

147

148 Alrededor de más de 200 mil muertes se han reportado desde marzo del 2020 en el Perú (19) y para frenar esta  
149 pandemia está claro que las vacunas son una importante herramienta para lograr este objetivo. Por lo que el gobierno  
150 peruano vino administrando hasta diciembre del 2021 más de 50 millones de dosis de las vacunas adquiridas por  
151 compra directa con los laboratorios productores de las cuales un 55% corresponde a una vacuna del tipo ARN  
152 (Comirnaty, Pfizer) (20). Sin embargo, no se tiene claro si la vacunación frente al virus del SARS-COV2 será del tipo  
153 anual y/o si se necesitaran dosis adicionales, por lo que la demanda por la vacuna sufrirá un incremento en los años  
154 venideros y estrategias para cubrir esa demanda deben ser discutidas en base a información técnica y económica  
155 pertinente.

156

157 Los programas simuladores de bioprocesos son una excelente herramienta de proyección de costos que les permiten a  
158 los profesionales de distintas áreas estimar gastos insumos, equipamiento e infraestructura relacionándolos con sus  
159 productos finales para tomar mejores decisiones de inversión (21-23). Existen muchos reportes con estas simulaciones  
160 de bioprocesos que ha permitido identificar puntos críticos y optimizarlos; así como también estimar valores  
161 económicos como el Valor Actual Neto (VAN) y la tasa de interés de Retorno (TIR) en base a precios de venta de los  
162 bioproductos (21, 24-28)

163 En base a lo expuesto los autores nos planteamos realizar un análisis de carácter técnico y económico (costos de  
164 inversión y operación) en base a un modelo simulado del bioproceso para vacunas ARN y para que de esta forma  
165 podamos generar información relevante para propuestas de implementación de una planta de producción de este tipo  
166 de vacunas que pueda cubrir la demanda de la población peruana por vacunas frente al SARS-COV-2. Para ello  
167 primero identificamos la demanda total peruana de vacunas ARN, luego seguiremos con modelar el proceso  
168 productivo de vacunas ARN el cual será alimentado con costos de equipos, consumibles y reactivos para finalmente  
169 proyectar costos de inversión y de operación de los lotes productivos, así como el costo por dosis producido.

170

## 171 **MATERIALES Y METODOS**

172 La presente propuesta obedece a un flujo del tipo unilateral (manufactura primaria) desde los procesos *upstream*  
173 (corriente arriba) hasta los procesos *downstream* (corriente abajo) hasta obtener el producto denominado “bulk drug”  
174 o “*batch/lot*”, luego de ello se seguirá con la etapa de envasado denominado “*fill-to-finish*” o de manufactura  
175 secundaria en donde se obtiene el Ingrediente Farmacéutico Activo (IFA) envasado, todo ello incluyendo los costos  
176 de aseguramiento de la calidad siguiendo las actuales prácticas de GMP, con el objetivo de asegurar la seguridad,  
177 eficacia y calidad del producto final (Figura 1).

178

### 179 **Fuente de datos**

180 Las fuentes de información sobre los procesos de producción y costos para la producción de vacunas ARN fueron  
181 obtenidos de artículos científicos (1, 5, 7, 15, 16), patentes (29, 30) y accesos web de proveedores internacionales  
182 ubicados en los Estados Unidos (Sigma-Aldrich, Cayman Chemical, Trilink Biotechnologies, Fisher Scientific,  
183 Genscript, Piscataway) que pueden realizar envíos a Perú o que cuenten con una empresa representante en el Perú  
184 (Sartorius Stedim) la información recabada de los costos se presenta en el material suplementario de este trabajo (Tabla  
185 S1 en material suplementario). Para el cálculo de la cantidad de ARN por dosis se recurrió a la información registrada  
186 por parte de las empresas fabricantes ante la Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas de Perú  
187 (DIGEMID) (<https://www.digemid.minsa.gob.pe/covid-19/vacunas-covid-19>) (Tabla S2 en material suplementario),  
188 para la estimación de la población total del Perú se recurrió a la base de datos del Instituto Nacional de Estadística e  
189 Informática (INEI) ([www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones\\_digitales/Est/Lib1743/Libro.pdf](http://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones_digitales/Est/Lib1743/Libro.pdf)) y  
190 además se consideró revisar portales web de instituciones peruanas para complementar la información de recursos los  
191 cuales se detallan durante el proceso metodológico del presente estudio.

192

### 193 **Simulación del bioproceso**

194 El proceso total fue simulado en un entorno de equipos tipo “*single-use*” asumiendo un modo de operación del tipo  
195 *batch*. Los procesos de producción del IFA para las vacunas de ARN que se encuentran con una autorización en Perú  
196 (Comirnaty) fueron relacionados con los siguientes componentes: costos de inversión de capital (Total Capital

197 investment, CapEx), costos de operación por lote (Lot operating costs, OpEx), volúmenes de producción, costos por  
198 dosis, costos para la validación y control del calidad (Quality control, QC) y mantenimiento de equipos (Quality  
199 assurance, QA) los cuales fueron procesados por el programa simulador Evaluation Ed.-SuperPro Designer  
200 v12.1.3001 (Scotch Plains, New Jersey, USA), para ello el programa realiza una simulación de bioprocesos empleando  
201 un set de ecuaciones algebraicas y diferenciales para el cálculo de material y energía por cada unidad operativa  
202 (equipos y procedimiento) dentro del bioproceso brindando una proyección de costos y gastos dentro de una  
203 simulación (21-23).

204

#### 205 **Análisis técnico**

206 Este análisis fue dividido en dos niveles de manufactura. La primaria que considera los procesos *upstream* y  
207 *downstream* la cual implica desde el ingreso del *Raw Material* (Plásmido de ADN con las secuencias del gen espícula  
208 del virus SARS-CoV-2, casquetes, nucleótidos nativos y modificados, enzimas, sales, etc) para la síntesis *in vitro* del  
209 ARN para luego pasar por los procesos de purificación, encapsulamiento empleando nano partículas de lípido (ARN-  
210 LNP) y culminar con su almacenamiento como IFA hasta el inicio de la manufactura secundaria. Se siguió el proceso  
211 propuesto por Kis Zoltán y Zain Risvi, 2020 para las vacunas ARN (1, 7, 15) con modificaciones (ver detalle en  
212 Archivo S1 de material suplementario) y a su vez cada equipo y flujo involucrado se le asignó un código respectivo  
213 para su fácil discriminación dentro del mapa del proceso

214

#### 215 **Análisis Económico**

216 El presente análisis considerará los valores en dólares dado que el 100% de los insumos, equipos y materiales son  
217 importados y son a su vez los que emplea el programa simulador para realizar las estimaciones considerando también  
218 los supuestos ingresados como factores numéricos, los mismos que fueron considerados de estudios previos (1, 7, 15),  
219 salvo aquellos factores que se describen en el presente estudio. Se obtuvieron valores de CapEx (monto total de  
220 inversión en capital fijo) y de OpeX por lote (que reflejan los costos variables por lote productivo), el detalle de cada  
221 valor se describe en la sección de material suplementario (Archivo S1). En relación a los costos obtenidos de fuente  
222 local (gastos de servicios y personal) se consideró emplear el tipo de cambio con fecha de desarrollo del presente  
223 trabajo basado en el convertidor de las Naciones Unidas  
224 (<https://treasury.un.org/operationalrates/OperationalRates.php>). En relación al costo de la manufactura secundaria fue  
225 considerado en US \$ 0.37 centavos por cada dosis preparada y además se debe considerar que cada vial contiene 6  
226 dosis lo que equivaldría a US \$ 2.22 por vial preparado que considera gastos de equipo, insumos y personal (1, 7).

227

228

#### 229 **ASPECTOS ÉTICOS**

230

231 Para el desarrollo del presente estudio sólo se consideraron datos de carácter técnicos y económicos relacionados con  
232 los procesos de producción de vacunas ARN (costos de materiales, equipos e infraestructura) que fueron simulados

233 mediante el uso de programas bioinformáticos y no involucro la participación de sujetos humanos o animales o datos  
234 derivados de estos, por lo que no se requirió contar con la revisión y aprobación por parte de un comité de ética.

235

## 236 **RESULTADOS**

### 237 **Estimación de la cantidad de dosis de vacunas ARN para la población peruana.**

238 La población peruana según reportes del INEI ascendió para el año 2020 a 32, 625,948 de personas para lo cual se  
239 consideró un 5% de sobreproducción para la estimación de dosis necesarias, luego este valor fue multiplicado por 2  
240 que representa al número de dosis necesaria por persona según los registros de cada vacuna ARN en el Perú,  
241 obteniéndose el valor de 66, 883,193. Con este valor obtenido se procedió a calcular la cantidad (Kg) de vacuna ARN  
242 necesaria para cubrir la necesidad peruana, para ello se multiplico la cantidad de ARN que se necesita por dosis para  
243 las vacunas ARN en el Perú, el cual asciende a 30 µg por dosis y esta se multiplico por la demanda total peruana  
244 obteniéndose un valor de 2 Kg de ARN necesarios, finalmente a este valor se le consideró adicionar un 44% adicional  
245 que representa las pérdidas ocurridas durante la fase *downstream*/formulación y un 5% para cubrir pérdidas totales de  
246 cualquier índole, otorgándonos un valor final redondeado de 3 Kg de vacuna ARN necesaria para cubrir la demanda  
247 Peruana (100 millones de dosis).

248

### 249 **Modelado del proceso para producción de vacunas ARN.**

250 De forma general, la simulación arrojo un tiempo total para la manufactura primaria de 4 meses y un tiempo similar  
251 para la manufactura secundaria haciendo un total de 8 meses para todo el proceso total.

252

### 253 **Manufactura Primaria**

254 El modelo simulado se presenta en la figura 2 el cual estuvo conformado por 28 procesos los cuales requieren un  
255 periodo por lote/*batch* de 43.31 horas contemplando una duración de 9.58 horas para la etapa *upstream* (22% del  
256 tiempo total empleado) y de 33.73 horas dedicados a la etapa *downstream* (88% del tiempo total). El modelo fue  
257 diseñado para procesar 5 litros de biorreactor conteniendo el ARN sintetizado a razón de 5g/L, los cuales pasan por  
258 un proceso de purificación y encapsulamiento en nanopartículas de lípidos para luego ser trasladado hasta la etapa de  
259 manufactura secundaria. Dentro del modelo simulado la mayoría de procesos fueron sobrelapantes en sus tiempos  
260 (26/28); sin embargo, se encontraron dos etapas de cuello de botella (*bottle neck*) la primera se ubicó en la etapa  
261 *upstream* en el proceso de la reacción de transcripción o síntesis *in vitro* del ARN (7.36 h) y para el caso de la etapa  
262 *downstream* fue el proceso de encapsulamiento del ARN con las nanopartículas de lípidos (14.75 h). De ambos procesos  
263 dependen el inicio y final de los siguientes procesos además del tiempo de duración de estos tienen un impacto sobre  
264 el modelo simulado repercutiendo de esta forma en las cantidades de producto generado por cada lote o *batch* (Fig.  
265 S1 en material suplementario).

266

267 El volumen productivo simulado equivale a unos 47.37 Litros/lote o 47.32Kg/lote, lo cual genera una cantidad de  
268 0.019 Kg/lote de ARN – LNP que representa un 0.0422% del volumen total del proceso; esto permitiría producir 3  
269 lotes en 78.81 horas (Fig. S3 en material suplementario) y obtener 40 lotes mensuales con espacios de 17.75 h que en  
270 su conjunto producirán 0.81 kg de ARN – LNP. Conllevando de esta forma, que para alcanzar los 3Kg de vacuna  
271 ARN necesaria se requeriría de cerca de 4 meses de trabajo y 160 lotes producidos según el modelo presentado. Cabe  
272 indicar que algunos aspectos no fueron considerados en este estudio y que también afectan a los tiempos de  
273 producción, entre ellos tenemos la correcta organización de los procedimientos dentro de cada unidad operativa, los  
274 entretiempos entre los lotes producidos, esterilizaciones y limpiezas luego de los procesos (sólo fue considerado para  
275 los equipos de filtración tangencial), así como los ensayos analíticos requeridos para validar cada etapa del proceso  
276 de producción.

277

### 278 **Diseño de facilidades de la planta**

279 Los 160 lotes a requerirse pueden ser albergados en una única línea productiva que puede estar dentro de una (01)  
280 misma facilidad de producción compuesta de módulos prefabricados que pueden ser rápidamente armados y equipados  
281 con tecnología *single-use*, tal y como lo indican reportes previos de producción de vacunas ARN y como fue en el  
282 caso de Pfizer en Michigan, Estados Unidos (1, 7) un esquema de esta planta de única facilidad es presentado en la  
283 Figura S3 (material suplementario) basándose en un laboratorio tipo *single-use* empleado para la producción de  
284 vacunas para influenza empleando células de insecto las cuales no requieren niveles de bioseguridad complejos y que  
285 fue destinado para producir alrededor de 100 millones de dosis anuales (14).

286

### 287 **Labor requerida para la manufactura primaria**

288 Para esta etapa el modelo generó un valor en tiempo de 173.64 horas de la labor de los profesionales (ingenieros  
289 biotecnólogos, biólogos, químicos farmacéuticos, etc) por cada lote producido del IFA, de esta forma considerando  
290 que son 160 lotes requeridos tenemos un total de 27,782.4 h. De ello obtenemos que a 8 horas diarias de labor en 22  
291 días al mes de trabajo y por 4 meses de trabajo se van a requerir cerca de 39 profesionales capacitados y a tiempo  
292 completo para cumplir la demanda de producción, ello considerando que el 60% de su tiempo sería operativo y 40%  
293 administrativo según el modelo simulado.

### 294 **Otros recursos**

295 Un recurso a considerar fue el consumo de agua para inyectables (WFI) por lote que asciende a 4,476.17 litros lo que  
296 equivale a 716,187.2 litros para cubrir los 160 lotes necesarios por lo que el sistema de aguas a implementarse debe  
297 contemplar esta demanda (Tabla. S2 en material suplementario).

298

## 299 **Manufactura Secundaria**

300 Con el volumen total de ARN-LNP producidos de la manufactura primaria, estos pueden ser envasados a razón de 30  
301  $\mu\text{g}$  por dosis en un vial de 6 dosis (180  $\mu\text{g}$  total de ARN-LNP/vial), de esta forma los 3Kg de ARN-LNP demandarían  
302 alrededor de 16, 666,666 viales a lo cual debe considerarse un 5% más por perdidas haciendo un total de 17.5 millones  
303 de viales. Este valor sería trabajado en equipos tipo *fill-to-finish* a razón de 400 viales por minuto lo que demandaría  
304 un tiempo de 91.14 días laborables (8 horas por día) y unos 4.14 meses (22 días por mes) para que todos estos viales  
305 se terminarían de llenar y envasar.

306

## 307 **Análisis económico**

308 Se obtuvo un valor de CapEX por un total de US \$ 91.5 millones (Tabla 1), de los cuales el 59.47% de los gastos de  
309 inversión inicial corresponden a las actividades propias del *Working capital* -10d (o gastos de capital inicial), este  
310 valor está en función a los costos de los materiales y consumibles los cuales también afectan a los valores de OpEX.  
311 También es importante considerar que el costo de los equipos listados y no listados, así como su respectiva instalación  
312 sólo representan un 4.32% de la inversión.

313

314 Dentro del CapEx, en los costos directos (DC) la mayor demanda económica fue lo referente a la construcción de las  
315 instalaciones y/o facilidades donde se llevarán a cabo las etapas de manufactura primaria (63.61% del monto total de  
316 DC con un monto de más de US \$ 7 millones). A este valor se le debe considerar los otros gastos indirectos (IC) que  
317 suman un valor de más de US\$ 9 millones para los procesos de construcción básica (expedientes técnicos,  
318 excavaciones, planos, etc). Dentro del OpEx por lote tenemos que los materiales representan un 97.71% del costo por  
319 lote. Dentro de este grupo de materiales el producto CleanCapAG posee un 53.36% de los costos seguidos por mod-  
320 UTP con 30.54% y el Lípido ionizable con 13.65% (Tabla 2) de estos los dos primeros son empleados en el proceso  
321 de síntesis *in vitro* del ARN en la etapa *upstream*, mientras que el lípido ionizable es el componente con mayor  
322 demanda para la elaboración de la mezcla de lípidos (9 gramos por batch que equivale a un 56.25% de la mezcla final)  
323 (Tabla. S2 en material suplementario), la cual permiten el correcto encapsulamiento del ARN en la etapa *downstream*.  
324 Además, es interesante conocer que el costo total del CleanCapAG necesario para producir un lote representa una  
325 tercera parte (29.22%) del costo total de inversión para la construcción de las instalaciones, tornando a este material  
326 como el más costoso y a la vez más importante ya que participa en la reacción de síntesis *in vitro* y evita que la  
327 molécula de ARN sea degradada por el hospedero.

328 Mientras que los otros materiales incluyendo el plásmido molde de ADN y enzimas sólo representan un 2.45% del  
329 costo de los materiales necesarios. Además, los costos de consumibles del tipo *single-use* al considerar que son  
330 herramientas bastante modernas sólo afecta a un 2% del OpEx por lote, ello incluye las bolsas para los biorreactores,  
331 bolsas de almacenamiento, resinas cromatográficas, membranas para filtración, ultrafiltración y diafiltración.

332 Para el caso de la manufactura secundaria se estimaron producir alrededor de 16.66 millones de viales a 6 dosis cada  
333 una y con una estimación de 2.22 dólares por vial, nos genera un valor de US\$ 36,9 millones para envasar la cantidad  
334 de viales estimados (Tabla 3). El costo total de inversión de la planta para vacunas ARN y su funcionamiento asciende  
335 a US\$791.2 millones para producir 100 millones de dosis lo que equivaldría a que cada dosis tenga un costo de 7.91  
336 dólares. De estos valores un 83.8% equivalen a los costos operativos de la producción, un 11.6% a la infraestructura  
337 invertida y un 4.7% corresponde a la etapa de manufactura secundaria (Tabla 3).

338

## 339 DISCUSIÓN

340 El modelamiento técnico económico y su análisis posterior representan pasos críticos para establecer requerimientos,  
341 infraestructura, materiales y servicios para que de esta forma se logren plantear estrategias de inversión palpables en  
342 especial en el campo biotecnológico. De esta forma instituciones y empresas (6, 15, 21-23) y como experiencia de su  
343 uso ha permitido generar una reducción de gastos de hasta 100 veces los costos operativos (OpEx) para las plantas  
344 productoras de recombinantes identificando puntos claves del proceso total y realizando análisis de económicos  
345 proyectados (3, 16, 21). En el presente trabajo decidimos modelar y realizar un análisis técnico económico de una  
346 planta productora de vacunas ARN que logre cubrir la demanda de dosis por parte de la población peruana el cual  
347 sigue el principio de sintetizar, separar, purificar y encapsular el ARN sintético (Figura 1) con el objetivo de asegurar  
348 la calidad, seguridad y eficacia considerando costos de un laboratorio tipo BPM considerando además que la  
349 tecnología de ARN es bastante nueva y no posee ensayos analíticos previamente establecidos.

350 En el bioproceso simulado presentado es importante notar que la etapa *upstream* involucra menos procesos de los que  
351 toman esta misma etapa con otras tecnologías como las que emplean células; siendo esto característico de las  
352 producciones de vacunas ARN (3, 15). Además, se deben considerar los procesos denominados “cuellos de botella o  
353 *bottle neck*” que en nuestro modelo son los procesos de Síntesis *in vitro* del ARN (RBS- 01) y Encapsulamiento del  
354 ARN sintético (R-101) y para evitar estos procesos dificultosos se recomienda el uso de múltiples equipos que sirvan  
355 de soporte adicional para cada línea productiva para lograr así una correcta optimización del proceso (3, 8, 15, 31).

356

357 Los costos del *raw material* representan un 97.7% del costo de los gastos operativos lo cual representa un 24.7% más  
358 de lo reportado en los modelos anteriores de proceso de ARN (7, 15), esto debido a la diferencia de costos entre los  
359 países en donde se llevaron a cabo los costeos. Se espera que los costos de los productos tiendan a reducirse mientras  
360 más plantas y/o proveedores vayan apareciendo que produzcan los materiales más importantes como son el  
361 ClenCapAG, mod-UTP y el lípido catiónico.

362 En materia de equipamiento, este sólo afecta a un 4.32% del CapEx total, esto es debido a que con las nuevas  
363 tecnologías *single-use*, los equipos vienen pre-configurados para aceptar este tipo de consumibles y por tanto estos  
364 equipos son menos costosos, demandan menos procesos de mantenimiento, validaciones y calibración a diferencia de  
365 los sistemas de acero inoxidable que caracteriza a los sistemas convencionales de fermentación y algunos procesos de  
366 vacunas humanas y veterinarias (1, 13, 21). En el caso de los consumibles del tipo *single -use* estimados en nuestro

367 modelo sólo abarcaron un 2% del OpEx, esto es debido a la capacidad práctica que poseen estos sistemas de ser usadas  
368 y reemplazadas rápidamente sin etapas de validación previa permitiendo un ágil proceso, sin demandar muchos  
369 protocolos del tipo lavado en punto (*clean-in-place*, CIP) (21). Estas bolsas para biorreactores y tanques agilizan el  
370 proceso a diferencia de los sistemas de reactores de acero que necesitan de etapas de validación previo a cada  
371 procedimiento (14). Para el caso de las resinas para cromatografía y filtros de membrana tangencial estos pueden ser  
372 reusados para múltiples lotes reduciendo la cantidad de consumibles (7). En relación al personal para la manufactura  
373 primaria se estimó necesario contar con 39 profesionales para 4 meses de trabajo, sin embargo, se deben considerar  
374 personal para las evaluaciones de control de calidad, envasado, almaceneros, logística y administrativos por lo que  
375 otros autores consideran un valor de hasta 80 empleados en total **por** cada facilidad (7, 15, 32).

376

377 Con la información presentada en este trabajo se puede estimar que para 160 lotes que cubran la demanda peruana  
378 (32.6 millones de personas → 3Kg de ARN → 100 millones de dosis) y su manufactura secundaria se requerirá de  
379 una inversión de más de US \$ 791 millones lo que conllevaría a un costo aproximadamente de 8 dólares por dosis  
380 (Tabla 4). Este monto por dosis se ve altamente afectado por los costos de los materiales como el mod-UTP,  
381 CleanCapAG y lípidos ionizables tal y como lo demostraron las simulaciones previamente realizadas con distintos  
382 costos de estos productos (7, 15). Cabe indicar que los costos de producción presentados son sólo una fracción de los  
383 valores reales de venta ya que aún se deben contemplar los servicios finales de empaquetamiento, distribución,  
384 mercadeo, margen de ganancia, regalías entre otras asunciones los cuales podrían ascender entre los US \$ 500 millones  
385 hasta el billón de dólares según los modelos convencionales de vacunas (6).

386

387 En un estudio realizado el año 2019 (6) se estimó que el costo de un planta de producción de vacunas para los países  
388 en vías de desarrollo y que permitan producir 100 millones de dosis se estimaba entre los US \$ 157 hasta los US \$  
389 219 millones en lo que se refiere a costos fijos (construcciones, equipamiento, control de calidad, laboratorios,  
390 servicios, administración y espacios), en nuestro estudio estimamos que el CapEx debe ser menor y alrededor de los  
391 US \$ 91.5 millones considerando la tecnología *single-use* y que es una tecnología que no demanda inversión en la  
392 etapa *upstream*. Los costos presentados en el presente trabajo fueron calculados asumiendo una eficiencia de  
393 producción de reacción de 5g/L durante la síntesis *in vitro*; sin embargo, si se logrará optimizar la eficiencia del  
394 proceso para aumentar la producción por encima de los 7g/L los costos de producción tenderían a reducirse (1, 15, 16)  
395 por lo que se recomendaría ir trabajando en modelos pilotos para aumentar esta eficiencia productiva.

396 Recientemente, se han presentado modelos de diseños experimentales (DoE) mejorados por métodos de calidad por  
397 diseño (*Quality by design*) que han permitido identificar en mayor profundidad los parámetros críticos de los procesos  
398 de producción de vacunas ARN y entre ellos encontramos que la concentración y calidad del magnesio debe influir  
399 en la máxima actividad productiva de la síntesis *in vitro* del ARN (16). Un factor que se pensaría podría afectar el  
400 costo del proceso es el costo del plásmido de ADN, pero en el modelo simulado la inversión en el plásmido de ADN  
401 sólo representa un 0.1% del *raw material*. El proceso simulado no incluyó el proceso de obtención del ADN

402 plasmídico que contiene la secuencia del gen Spike del SARS-COV-2 ya que al ser un proceso altamente estandarizado  
403 y conocido y al haber múltiples proveedores del producto a nivel GMP en el mundo sólo se consideró el costo  
404 referencial de producción del producto de un plásmido estándar con el promotor T7 y optimizado para expresión en  
405 células mamíferas (aprox. 10kb).

406

407 En relación al tiempo, la planta trabajaría alrededor de 8 meses (4 meses por cada manufactura) y a este total se le  
408 debe considerar 2 meses adicionales que tomaría la liberación de un lote dado los ensayos analíticos y de control de  
409 calidad necesarios (7) por lo que tendríamos 10 meses de labores en la planta. A esto se le debe sumar los meses del  
410 proceso de implementación de una planta de ARN el cual se estima que puede tomar entre 4 a 8 meses y conlleva  
411 desde la capacitación del personal, visita experta (regulaciones, logística, infraestructura), designación del espacio  
412 destinado a la planta que debe contemplar cuartos limpios y estériles (WFI), facilidades, producción de agua para  
413 inyectables y seguridad en las áreas de trabajo con material inflamable (Proceso de encapsulamiento de ARN), inicio  
414 del proceso de transferencia tecnológica y ordenamiento de los materiales y equipos (productivos, analíticos y  
415 secundarios), construcción de la planta (empleando módulos prefabricados), primeras corridas del proceso modelado  
416 en físico, procesos de validación y *start-up* que toma alrededor de 10 días (7). Para toda esta etapa en nuestro modelo,  
417 exceptuando los pasos de ingeniería, se ha estimado un valor de 63 millones de dólares que equivalen a un 68.82%  
418 del costo del CapEx, esto debido a la limitada cantidad de profesionales expertos en el mundo que estarían interesados  
419 en iniciar el proceso de implementación de la planta, la cual también debe ser un tema de interés para la academia  
420 local.

421

422 La escala de producción peruana de 100 millones de dosis sólo representa un 0.001% de la producción anual de  
423 vacunas ARN (Comirnaty) estimada por la empresa Pfizer para finales del año 2022 y una planta que produce 100  
424 millones de dosis al mes de esta vacuna ARN que está ubicada en Bélgica (33); adicionalmente se debe considerar  
425 que ya existen acuerdos de instalación de plantas en países latinoamericano como Brasil y Argentina (34).

426 Luego de la manufactura secundaria se debe considerar la cadena de frío para el almacenamiento y el transporte ya  
427 que el modelo simulado corresponde a la vacuna Comirnaty la cual demanda una temperatura de -70°C la cual  
428 representa un reto para su correcta distribución en especial en países en vías de desarrollo (5, 7, 35), y esto es  
429 verificable con la limitada cantidad de puntos con ultra congeladoras disponibles para manejar este tipo de vacunas  
430 existente en el Perú (36).

431 El costo estimado por cada dosis en el presente estudio es de 8 dólares por dosis lo que representa una tercera parte de  
432 los 24 dólares que se estiman fue negociado por el gobierno peruano para el año 2021 por la vacuna Comirnaty de  
433 Pfizer (37). Cabe indicar que nuestros análisis se encuentran limitados a sólo los costos de materiales disponibles en  
434 las webs y por contacto directo con los proveedores internacionales y no contemplan gastos adicionales como lo son  
435 los fletes, impuestos, gastos de nacionalización, regalías, gastos de I+D, entre otros y además dentro de los materiales  
436 debe considerar una actualización de los costos de los materiales (*raw material*) del grado BPM. Además, este costo

437 representa 8 veces más que el costo calculado en previos modelos, pero se debe considerar que dichas estimaciones  
438 se realizaron considerando el mercado americano (1).

439 El costo de inversión total obtenido asciende a más de US \$ 791.2 millones (3,164 millones de soles), este valor  
440 representa un valor 3 veces superior al monto asignado por el gobierno peruano para las intervenciones de lluvias del  
441 fenómeno del NIÑO de los años 2015 – 2016; y un 55% del monto asignado para la adaptación y mitigación ante el  
442 cambio climático y a un 24% del monto destinado para las intervenciones ante la ocurrencia de desastres naturales. –  
443 FONDES del Perú (38).

444 Nuestro estudio sólo se limitó a presentar los datos técnicos y económicos de una planta de producción de vacunas  
445 ARN en base a la demanda nacional, esto basado en un modelo simulado; sin embargo, futuros estudios de sensibilidad  
446 económica (impacto del precio de suministros, optimización de estrategias de producción, tiempo del personal, entre  
447 otros) pueden ser considerados; además de plantearse futuros análisis de proyecciones de beneficios económicos  
448 (costos de venta de la vacuna, VAN (flujos de caja) y TIR (tasas de retorno)) para lo cual se requiere de un costo  
449 normalizado de venta de las vacunas de ARN, los cuales no están públicamente disponibles a la fecha de redacción de  
450 este trabajo. Esta información sería relevante ya que algunos estudios indican que los costos de producción de las  
451 vacunas locales son alrededor de un 47% menos que los precios de vacunas ofrecidas por su mercado local (6) y  
452 además puede contribuir al conocimiento de la rentabilidad económica justificada y determinar su sostenibilidad,  
453 retorno de ingresos y sus planes de financiamiento para fomentar así la decisión de inversión en esta planta productora  
454 de vacunas ARN (34).

455

456 La implementación de una planta productora de vacunas ARN en el Perú brindaría una mejor posición frente a futuras  
457 pandemias ya que para combatir un agente viral distinto o alguna nueva variante de preocupación del SARS-CoV-2  
458 sólo de debe cambiar la secuencia de ADN del antígeno de interés en el plásmido permitiendo a esta planta adaptarse  
459 en el corto tiempo a producir vacunas para toda la población peruana. Considerando que se tienen 10 meses para  
460 producir la vacuna ARN, los otros dos meses restantes del año podrían ser dedicados a la preparación de materiales y  
461 síntesis del plásmido de ADN molde (con misma o nueva secuencia antigénica) para el siguiente año productivo. El  
462 modelo simulado presentado en este estudio puede ser empleado por los actores de transferencia tecnológica,  
463 desarrolladores e ingenieros de bioprocesos y economistas para profundizar y mejorar el mismo mediante el ingreso  
464 de nuevas variables. Sin embargo, se debe de considerar que la actual norma técnica de salud para la investigación y  
465 desarrollo de vacunas contra enfermedades infecciosas en el Perú - NTS N°165-MINSA/2020/INS no contempla las  
466 investigaciones que puedan emplear vacunas de ARN mensajero (39) por lo que una actualización de la misma se  
467 haría necesario.

468 El uso de programas simuladores de procesos nos permite realizar proyecciones técnicas y económicas de todo un  
469 bioproceso en especial aquellas enfocadas al sector biotecnológico. En base a ello presentamos una simulación de un  
470 proceso de producción de vacunas del tipo ARN y los gastos que conllevaría su implementación en base a  
471 proyecciones de costos de materiales, equipos y consumibles con precios locales, esto con el fin de contar con una

472 mejor perspectiva del potencial de inversión ya sea pública o privada hacia el sector biotecnológico peruano que  
473 permita responder a demandas de la salud pública.

474

## 475 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 476 1. Kis Z, Kontoravdi C, Shattock R, Shah N. Resources, Production Scales and Time Required for  
477 Producing RNA Vaccines for the Global Pandemic Demand. *Vaccines*. 2020;9(1). doi:  
478 10.3390/vaccines9010003.
- 479 2. Pardi N. mRNA Innovates the Vaccine Field. *Vaccines*. 2021;9(5). DOI: 10.3390/vaccines9050486.
- 480 3. Rosa SS, Prazeres DMF, Azevedo AM, Marques MPC. mRNA vaccines manufacturing: Challenges  
481 and bottlenecks. *Vaccine*. 2021;39(16):2190-200. doi: 10.1016/j.vaccine.2021.03.038.
- 482 4. Henao-Restrepo AM, Preziosi MP, Wood D, Moorthy V, Kieny MP, Who Ebola Research DT. On a  
483 path to accelerate access to Ebola vaccines: The WHO's research and development efforts during  
484 the 2014-2016 Ebola epidemic in West Africa. *Curr Opin Virol*. 2016;17:138-44.  
485 doi:10.1016/j.coviro.2016.03.008.
- 486 5. Kis Z, Shattock R, Shah N, Kontoravdi C. Emerging Technologies for Low-Cost, Rapid Vaccine  
487 Manufacture. *Biotechnology journal*. 2019;14(7):1-2. doi:10.1002/biot.201970055.
- 488 6. Munira SL, Hendriks JT, Atmosukarto II, Friede MH, Carter LM, Butler JRG, et al. A cost analysis  
489 of producing vaccines in developing countries. *Vaccine*. 2019;37(9):1245-51.  
490 <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2018.11.050>.
- 491 7. Kis Z, Rizvi Z. How to Make Enough Vaccine for the World in One Year. Washington, D.C.: Public  
492 Citizen, 2021 May 26, 2021 [Internet]. Report No.: 01. [citado el 12 de diciembre de 2021].  
493 Disponible: <https://www.citizen.org/article/how-to-make-enough-vaccine-for-the-world-in-one-year/>
- 494 8. Ye T, Zhong Z, García-Sastre A, Schotsaert M, De Geest BG. Current Status of COVID-19  
495 (Pre)Clinical Vaccine Development. *Angewandte Chemie International Edition*. 2020;59(43):18885-97.  
496 <https://doi.org/10.1002/anie.202008319>.
- 497 9. Chen KD, Wu XX, Yu DS, Ou HL, Li YH, Zhou YQ, et al. Process optimization for the rapid  
498 production of adenoviral vectors for clinical trials in a disposable bioreactor system. *Applied  
499 microbiology and biotechnology*. 2018;102(15):6469-77. doi:10.1007/s00253-018-9091-5.
- 500 10. Cooper LM. Bioprocessing of oncolytic group B adenovirus for scalable production [Tesis  
501 Doctoral]: University of Oxford; 2014. Disponible en: [https://ora.ox.ac.uk/objects/uuid:bc62bd13-  
502 f43f-4d35-8975-7fc341ce209c](https://ora.ox.ac.uk/objects/uuid:bc62bd13-f43f-4d35-8975-7fc341ce209c)
- 503 11. Working PK, Lin A, Borellini F. Meeting product development challenges in manufacturing clinical  
504 grade oncolytic adenoviruses. *Oncogene*. 2005;24(52):7792-801. doi:10.1038/sj.onc.1209045.
- 505 12. Park A, Baker A. [Internet] Exclusive: Inside the Facilities Making the World's Most Prevalent  
506 COVID19 Vaccine: Time; 2021 [citado el 15 de diciembre del 2021]. Disponible en:  
507 <https://time.com/5955247/inside-biotech-vaccine-facility/>.
- 508 13. Bendezu J [Internet], editor I.7.5 Upstream and downstream processing of cell culture-derived virus  
509 particles. Abstracts of the 1 st International Congress of Biotechnology and Bioengineering-V  
510 COPEBIOT 2021; 2021; UNSA - Arequipa, Perú: CIIMAR; 2021. [citado el 15 de diciembre del  
511 2021]. Disponible en: [https://www2.ciimar.up.pt/pdfs/resources/abstract\\_book\\_5-8-2021\\_fgOnQ\\_.pdf](https://www2.ciimar.up.pt/pdfs/resources/abstract_book_5-8-2021_fgOnQ_.pdf)
- 512 14. Kinnevy E, Penkala I, Soohoo A, Vogel J. [Internet]. Manufacturing of Non-Egg Based Influenza Vaccine.  
513 Philadelphia, US: University of Pennsylvania, 2014. [citado el 15 de diciembre del 2021].  
514 Disponible en: [https://repository.upenn.edu/cbe\\_sdr/51/](https://repository.upenn.edu/cbe_sdr/51/)
- 515 15. Kis Z, Kontoravdi C, Dey AK, Shattock R, Shah N. Rapid development and deployment of high- volume  
516 vaccines for pandemic response. *Journal of advanced manufacturing and processing*.  
517 2020;2(3):e10060. doi: 10.1002/amp2.10060.
- 518 16. Van de Berg D, Kis Z, Behmer CF, Samnuan K, Blakney AK, Kontoravdi C, et al. Quality by design  
519 modelling to support rapid RNA vaccine production against emerging infectious diseases. *npj  
520 Vaccines*. 2021;6(1):65. doi:10.1038/s41541-021-00322-7.
- 521 17. Plotkin S, Robinson JM, Cunningham G, Iqbal R, Larsen S. The complexity and cost of vaccine  
522 manufacturing- An overview. *Vaccine*. 2017;35(33):4064-71. doi: 10.1016/j.vaccine.2017.06.003.

- 523 18. Wilson P. [Internet]. Giving developing countries the best shot: An overview of vaccine access and  
524 R&D. Switzerland: MSF Access Campaign Médecins Sans Frontières, 2010. [citado el 15 de  
525 diciembre del 2021]. Disponible en: [https://msfaccess.org/giving-developing-countries-best-shot-](https://msfaccess.org/giving-developing-countries-best-shot-overview-vaccine-access-and-rd)  
526 [overview-vaccine-](https://msfaccess.org/giving-developing-countries-best-shot-overview-vaccine-access-and-rd)  
527 19. Ministerio de Salud del Perú. Sala Situacional Covid-19 [Internet], Perú Lima: MINSA; 2021 [citado  
528 el 15 de diciembre del 2021]. Disponible en: [https://covid19.minsa.gob.pe/sala\\_situacional.asp](https://covid19.minsa.gob.pe/sala_situacional.asp).  
529 20. Ministerio de Salud del Perú. Vacunación COVID 19 [Internet] -PERÚ Lima: MINSA; 2021 [citado  
530 el 15 de diciembre del 2021]. Disponible en: [https://www.minsa.gob.pe/reunis/data/vacunas-](https://www.minsa.gob.pe/reunis/data/vacunas-covid19.asp)  
531 [covid19.asp](https://www.minsa.gob.pe/reunis/data/vacunas-covid19.asp).  
532 21. Nandi S, Kwong AT, Holtz BR, Erwin RL, Marcel S, McDonald KA. Techno-economic analysis of a  
533 transient plant-based platform for monoclonal antibody production. *mAbs*. 2016;8(8):1456-66. doi:  
534 10.1080/19420862.2016.1227901.  
535 22. Petrides D, Carmichael D, Siletti C, Koulouris A. Biopharmaceutical Process Optimization with  
536 Simulation and Scheduling Tools. *Bioengineering*. 2014;1(4):154-87.  
537 doi:10.3390/bioengineering1040154.  
538 23. Petrides D, Harrison RG, Todd PW, Rudge SR, Petrides DP. Bioprocess Design and Economics. In:  
539 Gubbins KE, editor. *Topics in Chemical Engineering. A series of Textbooks and Monographs. Second*  
540 *ed.* Oxford, NY: Oxford University Press; 2003. p. 84.  
541 24. Corbin JM, McNulty MJ, Macharoen K, McDonald KA, Nandi S. Technoeconomic analysis of  
542 semicontinuous bioreactor production of biopharmaceuticals in transgenic rice cell suspension cultures.  
543 *Biotechnology and Bioengineering*. 2020;117(10):3053-65. <https://doi.org/10.1002/bit.27475>.  
544 25. Hebbi V, Pandi K, Kumar D, Komives C, Rathore AS. Process for production and purification of lethal  
545 toxin neutralizing factor (LTNF) from *E. coli* and its economic analysis. *Journal of Chemical*  
546 *Technology & Biotechnology*. 2018;93(4):959-67. <https://doi.org/10.1002/jctb.5537>.  
547 26. Juneja A, Zhang G, Jin Y-S, Singh V. Bioprocessing and technoeconomic feasibility analysis of  
548 simultaneous production of d-psicose and ethanol using engineered yeast strain KAM-2GD.  
549 *Bioresource Technology*. 2019;275:27-34. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.12.025>.  
550 27. Sharma SS, Chong S, Harcum SW. Simulation of large-scale production of a soluble recombinant protein  
551 expressed in *Escherichia coli* using an intein-mediated purification system. *Applied biochemistry and*  
552 *biotechnology*. 2005;126(2):93-117. doi: 10.1385/ABAB:126:2:093.  
553 28. Varadaraju H, Schneiderman S, Zhang L, Fong H, Menkhaus TJ. Process and economic evaluation  
554 for monoclonal antibody purification using a membrane-only process. *Biotechnology Progress*.  
555 2011;27(5):1297-305. <https://doi.org/10.1002/btpr.639>.  
556 29. Bancel S, Issa William J, Aunins John G, Chakraborty T, inventors;  
557 US20160024547A1,WO/2014/152027,PCT/US2014/026835,assignee. *Manufacturing Methods for*  
558 *Production of RNA Transcripts*. EE.UU2014.  
559 30. Funkner A, Dorner S, Sewing S, Kamm J, Broghammer N, Ketterer T, et al., inventors;  
560 PCT/EP2016/062152,WO/2016/193206, assignee. *A Method for Producing and Purifying RNA,*  
561 *Comprising at Least One Step of Tangential Flow Filtration*2016.  
562 31. Roces CB, Lou G, Jain N, Abraham S, Thomas A, Halbert GW, et al. *Manufacturing Considerations*  
563 *for the Development of Lipid Nanoparticles Using Microfluidics*. *Pharmaceutics*.  
564 2020;12(11):1095. doi: 10.3390/pharmaceutics12111095.  
565 32. Girasek E, Kovács E, Aszalós Z, Eke E, Ragány K, Kovács R, et al. Headcount and FTE data in the  
566 European health workforce monitoring and planning process. *Human Resources for Health*.  
567 2016;14(1):42. doi:10.1186/s12960-016-0139-2.  
568 33. DeTijd-Newspaper [Internet]. Millions of extra Pfizer vaccines to be made in Flanders Flanders:  
569 *flandersinvestmentandtrad*; 2021 [citado el 15 de diciembre del 2021]. Disponible  
570 en:[https://www.flandersinvestmentandtrade.com/invest/en/news/millions-extra-pfizer-](https://www.flandersinvestmentandtrade.com/invest/en/news/millions-extra-pfizer-vaccines-be-made-in-flanders)  
571 [vaccines-be-](https://www.flandersinvestmentandtrade.com/invest/en/news/millions-extra-pfizer-vaccines-be-made-in-flanders)  
572 [made-in-flanders](https://www.flandersinvestmentandtrade.com/invest/en/news/millions-extra-pfizer-vaccines-be-made-in-flanders).  
573 34. Cabezas C. Productos estratégicos en salud: una necesidad para afrontar adecuada y oportunamente  
574 las pandemias y epidemias. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. 2021:-296.  
575 doi:10.17843/rpmpesp.2021.383.9776.  
576 35. Dolgin E. COVID-19 vaccines poised for launch, but impact on pandemic unclear. *Nature*  
577 *biotechnology*. 2020. doi:10.1038/d41587-020-00022-y.

- 577 36. Ministerio de Salud del Perú. [Internet]. MINSA asegura cadena de frío para vacuna COVID-19 Lima:  
578 MINSA; 2021 [citado el 15 de diciembre del 2021]. Disponible en:  
579 <https://www.minsa.gob.pe/newsletter/2020/edicion-45/nota1/index.html>.  
580 37. Melgarejo V. [Internet]. MINSA conozca los precios a los que se negocian las vacunas contra el COVID-  
581 19 Lima: GESTION; 2021 [citado el 15 de diciembre del 2021]. Disponible en:  
582 [https://gestion.pe/peru/minsa-  
583 conozca-los-precios-a-los-que-se-negocian-las-vacunas-  
584 el-covid-19-noticia/](https://gestion.pe/peru/minsa-conozca-los-precios-a-los-que-se-negocian-las-vacunas-contra-el-covid-19-noticia/).  
584 38. Ministerio de Economía y Finanzas del Perú [Internet]. Seguimiento de la Ejecución Presupuestal  
585 (Consulta amigable) Lima: MEF; 2021 [citado el 15 de diciembre del 2021]. Disponible en :  
586 [https://www.mef.gob.pe/es/?option=com\\_ content&language=es-  
587 ES&view=article&id=504](https://www.mef.gob.pe/es/?option=com_content&language=es-ES&Itemid=100944&lang=es-ES&view=article&id=504).  
588 39. Ministerio de Salud del Perú. [Internet]. Norma Técnica de Salud para la investigación y desarrollo de  
589 vacunas contra enfermedades infecciosas Lima: MINSA; 2021 [citado el 15 de diciembre del 2021].  
590 Disponible en: [https://www.gob.pe/institucion/minsa/normas-  
591 legales/1134857-686-2020-minsa](https://www.gob.pe/institucion/minsa/normas-legales/1134857-686-2020-minsa).

591

592

593

594

595

596

597

598

599

600

601

602

603

604

605 **TABLAS**

606 **Tabla 1. Resultados económicos para la planta de producción de vacunas ARN.**

<b>Componentes</b>	<b>Categorías</b>	<b>Subtotal (%)</b>	<b>Total, US \$ (%)</b>
<b>CapEX</b>	TEPC	3,958,000 (4.32)	91, 541,318 (100%)
	DC	11,553,000 (12.62)	
	IC	9,307,000 (10.17)	
	OC	3,723,000 (4.07)	
	<i>Start-up</i>	8,562,015 (9.35)	
	<i>Working capital -10d</i>	54,439,303 (59.47)	
<b>OpEx/lote</b>	Materiales	4,024,517 (97.17)	4, 141,926 (100%)
	Consumibles	83,609 (2.02)	
	Dependiente de las facilidades	11,712 (0.28)	
	Labor	14,557 (0.35)	
	Lab QC, QA	7,279 (0.18)	
	Servicios	2 (0.0)	
	Manejo de residuos líquidos	250 (0.0)	

607

608

609

610

611

612 **Tabla 2.- Resumen de categorías con mayor repercusión económica en el CapEx y OpEx**

<b>Categoría</b>	<b>Rubro/Material/Consumible</b>	<b>Subtotal (%)</b>	<b>Total, US \$</b>
<b>CapEX-DC</b>	Conexiones	1,029,000 (8.91)	<b>11,553,000</b>
	Instrumentalización	1,176,000 (10.18)	
	Aislamiento	88,000 (0.76)	
	Instalaciones eléctricas	294,000 (2.54)	
	Construcción de instalaciones y/o facilidades	7,349,000 (63.61)	
	Ingeniería del área de instalación	441,000 (3.82)	
<b>CapEx-IC</b>	Instalaciones auxiliares	1,176,000 (10.18)	<b>9,307,000</b>
	Ingeniería	3,878,000 (41.67)	
	Construcción	5,429,000 (58.33)	
<b>CapEx-OC</b>	Gastos de contingencia	2,482,000 (66.67)	<b>3,723,000</b>
	Gastos administrativos	1,241,000 (33.33)	
<b>OpEx/Lote Materiales</b>	Clean CapAG	2,147,482 (53.36)	<b>4,024,517</b>
	mod-UTP	1,229,087 (30.54)	
	Lípido ionizable*	549,347 (13.65)	
	Otros	98,601 (2.45)	

613 \* (4-hidroxibutil)azanodiil)bis(hexano-6,1-diil)bis(2-hexildecanoato) = ALC-0315

614

615

616

617

618

619

620

621 **Tabla 3.-** Estimación del costo por gramo de ARN-LNP producido y el costo por dosis incluyendo ambas manufacturas.

	<b>Montos de inversión (US \$)</b>	<b>Kg totales producidos por cada lote</b>	<b>Costo (US \$) por gramos del total lote&amp;</b>	<b>Gramos de ARN- LNP producidos por lote</b>	<b>Costo (US \$) por gramo de ARN-LNP total producido</b>	<b>Costo por dosis (US \$) (30µg)</b>	
<b>OpEx por lote</b>	4,141,926	47.32	92.14	19.9716	207,390.78	<b>6.22</b>	
<b>OpEx por 160 lotes (≥ 3kg)</b>	662,708,160	7,571.2	14,742.4	#3,195.2	207,407.41	<b>6.22</b>	
<b>OpEx por 160 lotes (= 3Kg)</b>	662,708,160					<b>*6.62</b>	83.8%
<b>CapEx</b>	91,541,318					<b>0.92</b>	11.6%
<b>Manufactura secundaria</b>	36,999,998					<b>0.37</b>	4.7%
<b>Total</b>	<b>791,249,476</b>					<b>7.91</b>	<b>100%</b>

622 \*Este valor fue obtenido considerando el número de 100, 000,000 dosis necesarias o 3 kg de ARN-LNP divididos en 30 µg.

623 &Se estimó en función del componente másico final del proceso que equivale para ARN-LNP a 0.0422%

624 #El cálculo es sobre el excedente propio de los 160 lotes (3.195 Kg de ARN-LNP).

625

626

627

**Tabla 4.-** Descripción del panorama y análisis técnico - económico de una planta biotecnológica productora de vacunas ARN.

<b>Panorama</b>			
<i>Población Peruana (2020)</i>	<b>*Vacuna Comirnaty</b> <b>Pfizer</b>	<b>Demanda Peruana</b>	
		<b>Cantidad de ARN necesario</b>	<b>Dosis necesarias</b>
32,625,948	Vacuna ARN-LNP 30µg/Dosis 6 dosis por vial. 2 dosis por persona. <ul style="list-style-type: none"> <li>• mod-UTP,</li> <li>• CleanCapAG</li> <li>• Mezcla lipídica</li> </ul>	3 Kg de ARN sintético	100,000,000
<b>Análisis técnico</b>			
<i>Tiempo de producción (10 meses)</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Start-up (4-8)</li> <li>• Manufactura Primaria (4)</li> <li>• Manufactura Secundaria (4)</li> <li>• Ensayos analíticos (2)</li> </ul>		
<i>Componentes y tiempos del proceso/lote</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 28 procesos (78% Downstream y 22% Upstream).</li> <li>• 43.31 horas por lote</li> <li>• 2 “cuello de botella” (Síntesis del ARN (7.36h) y Encapsulamiento ARN-LNP (14.75h))</li> </ul>		
<i>Valores productivos lote</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Producto total: 47.32 Kg</li> <li>• Producto específico: 0.019Kg ARN-LNP (0.0422%).</li> <li>• Lotes necesarios para demanda: 160 Lotes</li> </ul>		
<i>Facilidades y Personal</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &amp;1 Facilidad</li> <li>• 39 profesionales laboran 60% tiempo operativo</li> </ul>		
<i>Manufactura Secundaria</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 17.5 millones de viales.</li> </ul>		
<b>Análisis económico (\$)</b>			
<i>Total, Inversión</i>	791,249,476		

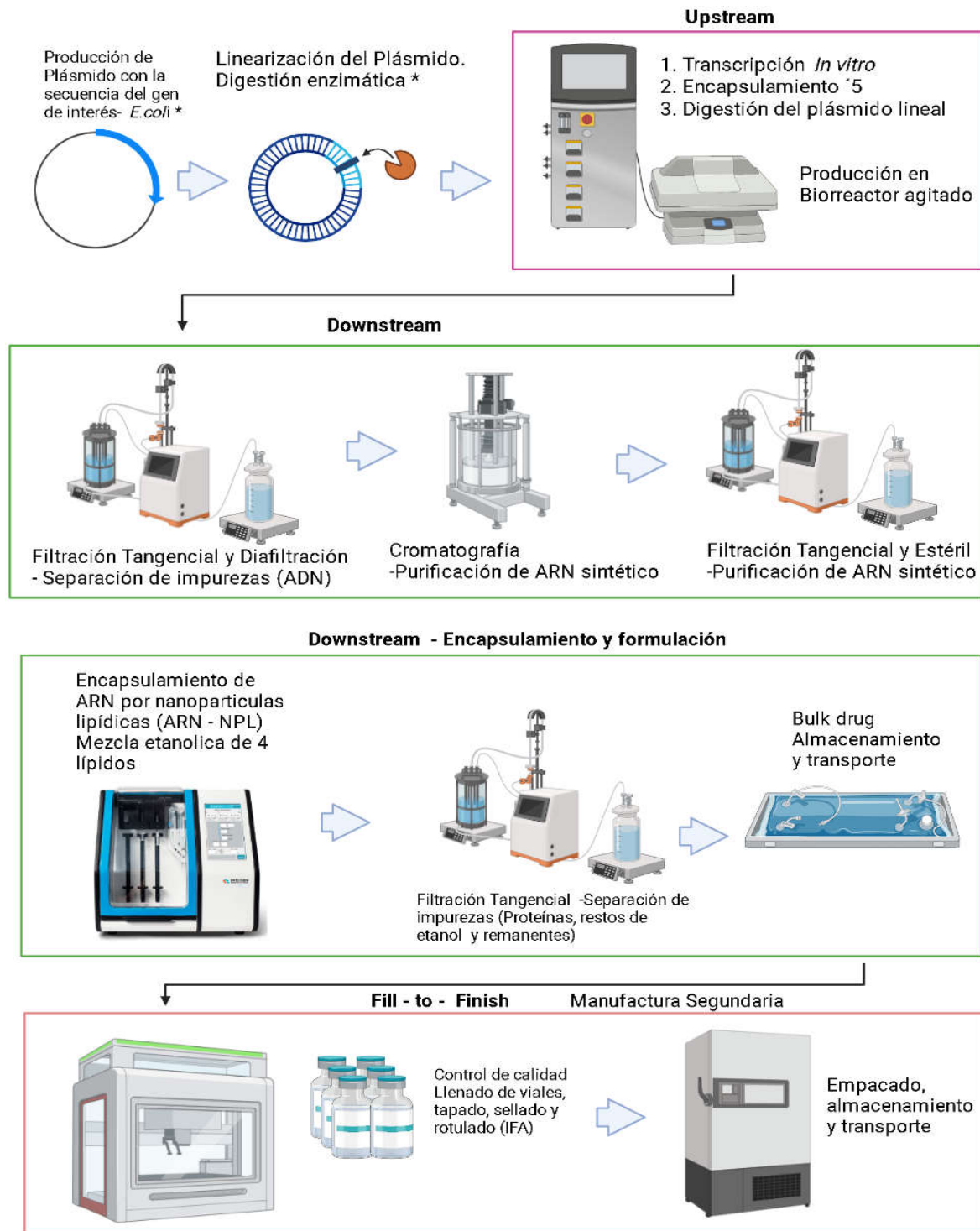
<i>CapEx (Planta biotecnológica)</i>	91,541,318	68.82% (Validación y start-up)
<i>OpEx 160 Lotes</i>	662,708,160	↑Clean CapAG ↑mod-UTP ↑Lípido ionizable
<i>Costo por dosis (\$)</i>	7.91	

\*Información tomada del Registro de DIGEMID.

↑ Denota el impacto en el OpeX.

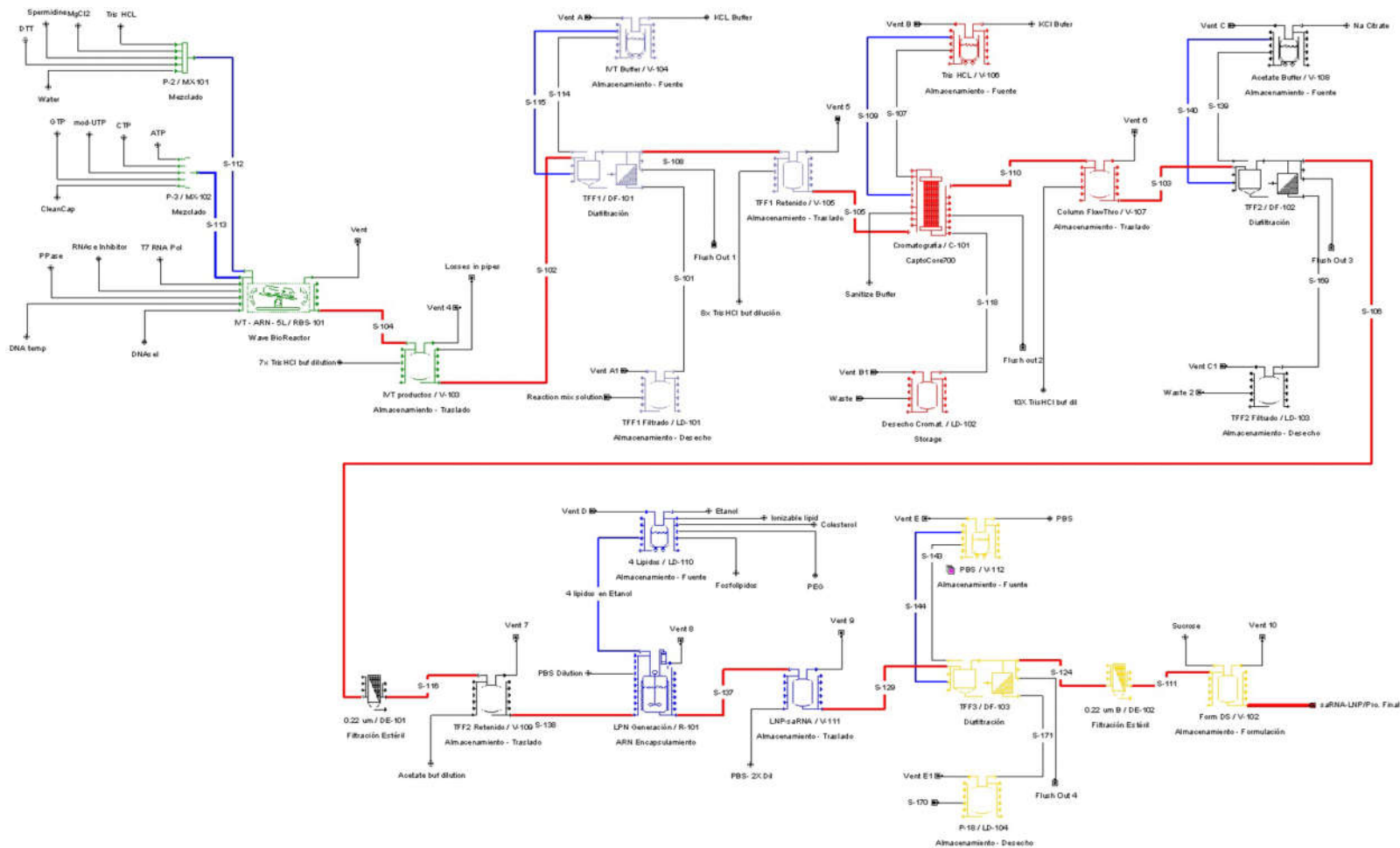
&Este valor fue tomado de reportes que indican por línea productiva se puede albergar 185 lotes/batch albergados en una sola facilidad (Zoltán Kis y Zain Rizvi 2021).

**FIGURAS**



**Figura 1.-** Esquema de la manufactura primaria (*upstream*) y secundaria (*dowstream*) de las vacunas de ARN.

\*Estas etapas pueden ser producidos de forma externa bajo condiciones GMP y fueron considerados como raw material total para la simulación. Figuras creadas mediante BioRender (<https://app.biorender.com/>).



**Figura 2.- Diagrama de flujo del proceso de producción de vacunas ARN a nivel de manufactura primaria empleando el programa SuperProDesigner.**

Las líneas rojas indican el flujo central del bioproceso, las líneas azules las ramas secundarias de alimentación y las líneas negras indican las ramas terciarias de alimentación o de descarte. El color en cada grupo de equipos indica una etapa. 1) Verde: Síntesis *in vitro* de ARN; 2) Azul claro: 1er flujo tangencial; 3) Rojo: Cromatografía; 4) Negro: 2da filtración tangencial y 1er filtrado estéril; 5) Azul oscuro: Encapsulamiento empleando nano lípidos y 6) Amarillo: 3ra filtración tangencial y 2do filtrado estéril. Adaptado de Zoltán Kis y Zain Rizvi 2020.

## **MATERIAL SUPLEMENTARIO**

### **ANÁLISIS TÉCNICO - ECONÓMICO DE UNA PLANTA DE PRODUCCIÓN PERUANA DE VACUNAS ARN CONTRA EL COVID-19.**

Jorge Bendezu<sup>1,2,a</sup> (<https://orcid.org/0000-0001-7102-3144>)

Sharmely Zanabria<sup>4,b</sup> (<https://orcid.org/0000-0002-4479-5816>)

Henri Bailón Calderon<sup>5,c</sup> (<https://orcid.org/0000-0002-9593-6092>)

Sandra Morales Ruiz<sup>1,d</sup> (<https://orcid.org/0000-0003-0986-0798>)

1 BIOTRANSFER SAC. Lima, Perú

2 Escuela Universitaria de Posgrado, Universidad Nacional Federico Villareal.

4 Innovaciones Tecnológicas HASSO GROUP. Lima, Perú

5 Laboratorio de Referencia Nacional de Biotecnología y Biología Molecular del Instituto Nacional de Salud. Lima, Perú

<sup>a</sup> Biólogo, Dr. Sc.; <sup>b</sup> Químico Farmacéutico, MSc; <sup>c</sup> Biólogo, MSc; <sup>d</sup> Bióloga, MSc.

**Correspondencia:** Jorge Bendezu; [eduar156@yahoo.es](mailto:eduar156@yahoo.es)

**Archivo S1.** Descripción de los niveles del proceso de manufactura de vacunas ARN para el modelo propuesto.

### **Consideraciones técnicas asumidas por el modelo para la manufactura Primaria:**

#### **Proceso *Upstream*:**

##### **Transcripción *in vitro* del ARN sintético**

En esta primera etapa que puede tomar entre 4 a 6 horas en un biorreactor de agitación (RBS-101), la enzima T7 RNA polimerasa de *Escherichia Coli* empleando como molde el templado lineal de ADN (previamente digerido con enzimas de restricción, el cual contiene la secuencia de ADN de interés de la proteína de la Espícula del SARS-CoV-2 y una secuencia de politiminas), los nucleótidos trifosfatados (ATP, CTP y GTP) y la versión modificada de la UTP (mod-UTP) generan una molécula de ARN sintética con una eficiencia de 5 gramos por Litro en un biorreactor en agitación. Adicionalmente, se debe contemplar el ingreso de volúmenes de Inhibidor de ARNasas, pirofosfatasa, espermidina y DTT. La reacción estequiométrica molar empleada como modelo fue:  $2,500 \text{ ATP} + 1 \text{ CleanCap AG} + 2,500 \text{ GTP} + 2,500 \text{ mod-UTP} + 2,500 \text{ CTP} \rightarrow 1 \text{ ARN sintético}$ .

Después de iniciado la síntesis del ARN, se procede a agregar el componente CleanCap AG que agrega un casquete 5' (etapa de *capping*) al inicio de la secuencia de ARN que se está generando, este paso es importante para que de esta manera esta molécula sintética no sea detectada como un agente de naturaleza viral por parte de las células humanas; y además de ello para que la capacidad de traducción y estabilidad molecular sean los óptimos se emplea la 1-metilpseudouridina-5'-trifosfato (mod-UTP). Luego de la síntesis del ARN y el *capping* del casquete 5', el plásmido de ADN linearizado es degradado mediante la adición de DNase I en presencia de iones de calcio dentro del mismo biorreactor de agitación.

Los insumos son previamente mezclados empleando sistemas de tanques agitados. La espermidina, Tris HCl, MgCl<sub>2</sub>, DTT y agua libre de ARNasa serán mezclados en un sistema del tipo agitado (MX-101) y serán transferidos a un flujo de 2.77 litros por batch (L/*batch*) en S-112 hacia el biorreactor RBS-101; de forma similar los nucleótidos trifosfatados, el mod-UTP, el CleanCapAG y agua libre de ARNasas son previamente mezclados (MX-102) en otro sistema y transferidos a un flujo de 0.75 L/*batch* en S-113 hacia el biorreactor de agitación (RBS-101). Luego el ARN sintético y las demás impurezas son transferidos a un tanque de almacenamiento (V-103) a un flujo de 3.74 L/*batch* en S-104 en donde son diluidos con 7 volúmenes de buffer Tris HCl dentro de un sistema de almacenamiento (V-103).

#### **Proceso *Downstream*:**

##### **Purificación de ARN sintético**

Pasado la digestión del plásmido de ADN linearizado, se da paso al proceso con mayor demanda de tiempo de todo el bioproceso el cual busca la purificación de las moléculas de ARN sintéticas generadas durante la

etapa *upstream*. Para ello se debe considerar que las moléculas de ARN tienen un peso aproximado de 2.5MDa seguidas por las enzimas empleadas en el proceso previo como la T7 ARN polimerasa (~0.1MDa) y la DNase I (~0.03MDa), por lo que los procesos de filtración tangencial pueden ser empleados para esta etapa de forma rápida y económica considerando que cada 5g de ARN pueden ser purificados por cada m<sup>2</sup> de membrana empleada y asumiendo una retención del 95% generando una pureza de 90%. El proceso se inicia con el traslado de V-103 hacia una primera unidad operativa de Filtración Tangencial (TFF1/DF-101) con un flujo de 26.2 L/*batch* (S-102), el cual empleando filtros de retención acordes al tamaño de las moléculas de ARN sintéticas (Membranas de ultrafiltración de un corte desde 300 hasta 500 kDa) y el uso de búferes como cloruro de potasio (V-104) permiten retener el ARN sintético, desechar las impurezas y concentrar el ARN hasta en 10 veces.

El retenido es trasladado a razón de 26.3 L/*batch* (S-108) hacia un tanque de almacenamiento (V-105). Luego de ello el retenido almacenado es transferido (S-105) hacia una columna cromatográfica empleando la resina Cpto Core 700 (Cytiva, Uppsala, Suecia) y solución de Tris HCl que es transferido de un tanque de almacenamiento (V-106) permitiendo de esta forma separar las moléculas basadas en dos principios: i) Tamaño y ii) Enlace a ligandos hidrofóbicos cargados positivamente; todo esto asumiendo un flujo interno de 50g de ARN por litro de resina empleada. Luego el volumen eluido (conteniendo el ARN sintético y libre de las enzimas empleadas en la etapa *upstream*) es transferido (S-110) a un nuevo sistema de almacenamiento (V-107) y lavado hasta con 10 volúmenes de buffer Tris HCl para completar la eliminación de las impurezas. Desde V-107, el ARN sintético será trasladado a 37.6 L/*batch* (S-103) a una segunda unidad operativa de filtración tangencial (TFF2/DF-102) en donde es concentrado hasta en 2 factores con una membrana de 500 kDa y buffer citrato de sodio que proviene de un tanque de almacenamiento (V-108), finalmente el retenido es transferido (S-106) a 13.1 L/*batch* para ser filtrado de forma estéril a través de una membrana de 0.22 µm (DE-101).

### **Encapsulamiento de ARN sintético con nanopartículas de lípidos (ARN-LNPs).**

El retenido de TFF2/DF-102 que fue filtrado es almacenado en V-109 para ser preparado para el proceso de encapsulamiento en nanopartículas de lípidos (LNPs). El paso de formulación mediante LNPs requiere de la mezcla etanólica de 4 lípidos principales que son: i) Lípidos ionizables (((4-hidroxibutil)azanodiol)bis(hexano-6,1-diol)bis(2-hexildecanoato), ALC-0315), ii) colesterol, iii) fosfocolina (1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfocolina, DSPC) y iv) polietilenglicol (2-[(polietilenglicol)-2000]-N,N-ditetradecilacetamida, ALC-0159)); los cuales a través de LD-110 son transferidos hacia un mezclador microfluídico (Precision NanoSystems, San Francisco, CA, Estados Unidos) (R-101), para el modelo presentado se consideraron un total de 19 horas desde la programación, transferencia de soluciones, formulación que abarco 14 horas y la etapa de limpieza con una duración de 5 horas. Luego de transferir la mezcla etanólica, el ARN sintético purificado proveniente de V-109 es trasladado a razón de 115.38 L/*batch* (S-138) al mezclador microfluídico para proceder con el proceso de encapsulamiento del ARN siguiendo la

presente reacción considerando las siguientes proporciones molares:  $1,700 \text{ Colesterol} + 1,000 \text{ Lípidos ionizables} + 1,200 \text{ PEG} + 3,606.6 \text{ Fosfocolina} + 1 \text{ ARN sintético} \rightarrow 1 \text{ ARN-LNP}$ .

Este último paso es considerado como un “cuello de botella” debido al tiempo que requieren para su formulación, los costos de los insumos y además que influye directamente en las cantidades de vacunas producidas. Seguido del encapsulamiento de las moléculas de ARN con las nanopartículas de lípidos (ARN-LNP), el lote es transferido (S-137) a 155.86L/*batch* hacia un tanque de almacenamiento (V-111). Luego el ARN-LNP es transferido (S-129) a razón de 473.62 L/*batch* hacia una tercera unidad operativa de Filtración tangencial (TFF3/DF-103) en donde será concentrado, lavado (empleando 10 volúmenes de buffer fosfato salino) para remover los excedentes de etanol y diafiltrado con el buffer de pre-formulación (1xPBS). Luego el retenido es transferido (S-124) a una razón de 47.38 L/*batch* hacia una unidad de filtrado a través de membrana de 0.22  $\mu\text{m}$  (DE-102), acto seguido será transferido (S-111) a razón de 47.2 L/*batch* en donde será diluido y almacenado en sacarosa (V-102). Finalmente, este volumen será dispensado en bolsas de entre 5 a 10 litros que serán llevados a los equipos de llenado de viales (*fill – to -finish*).

Adicionalmente, se consideró simular el proceso empleando un equipamiento auxiliar (CIP.SKD-109 y 101) para el *lavado in situ* (CIP) de los sistemas de filtración tangencial y diafiltración (TFF/DF) por ser claves en el proceso de purificación del ARN sintético y del ARN-LNP ya que además son puntos sensibles de contaminación de no aplicarse un estricto control de limpieza post proceso.

### **Consideraciones técnicas asumidas por el modelo para la manufactura Secundaria:**

Obtenidas las bolsas de 5 a 10 Litros con el ARN-LNP se inician los ensayos de control de calidad del *bulk* o lote y en paralelo al envasado para ello se recomiendan equipos llenadores, tapadores y selladores o que cumplan las tres actividades (Blow-Fill-Seal o Intact Modular Filler (New Milford, CT, USA)) que puedan llenar viales de 2mL que contengan 6 dosis de 30 $\mu\text{g}$  de ARN-LNP (volumen final de 180 $\mu\text{L}$ ) ello estimando un ratio de 400 viales por minuto y asumiendo un 5% de pérdidas en las líneas de llenado.

### **Consideraciones económicas asumidas por el modelo**

#### **CapEx**

Este componente describe el monto total de inversión de la planta, estimada en función a los costos de los equipos y materiales ingresados al software y generando de forma coherente las distintas categorías de la inversión a realizar. Para el CapEX se consideró el costo de la compra de equipos (Total Equipment purchase cost, TEPC) como un monto fijo para estimar las proyecciones de Costos Directos (Direct cost, DC), Costos indirectos (Indirect cost, IC), Otros costos (Other cost, OC), *start – up* y *working capital*.

Para el cálculo del DC se agruparon en los siguientes rubros: i) Costeo de conexiones necesarias para el correcto funcionamiento del equipo (válvulas, aros, mangueras, etc), ii) Costos de instrumentalización

(incluye los costos de transmisores, controladores, paneles externos, procesadores gráficos, computadores, laptops, etc), iii) Costeo de aislamiento para ambientes que tengan puntos críticos de temperatura, iv) Costeo de instalaciones eléctricas, v) Construcción de instalaciones para el grado de buenas prácticas de manufactura (BPM o GMP) seteado en un 250% TEPC, vi) Costos de ingeniería del área de instalación (excavaciones, caminos, veredas, hidrantes, estacionamientos, etc), vii) Costeo de equipos no enlistados (equipos menores), viii) Costeo de instalación de los equipos menores y ix) Costeo de instalaciones auxiliares (estación de energía).

Para IC se aplicaron los siguientes rubros: i) costos de ingeniería que incluya la elaboración del expediente técnico completo y ii) los costos de construcción, los cuales fueron dependientes de los valores obtenidos del DC. Luego para el cálculo del OC se tomó de la suma de IC + DC, i) 10% para gastos de contingencia y ii) 5% para gastos administrativos. Para el rubro de validación, certificaciones BPM e inicio de las actividades de la planta (*start-up*) se consignó un costo de 30% del Capital fijo directo (Direct fixed capital, DFC) que se obtuvo de la suma de DC+IC+OC. Adicionalmente se consideró un marco de 10 días de trabajo del personal, materiales, facilidades básicas y tratamientos de agua (*working capital*).

### **OpEx**

Este componente considera todos los gastos operativos del proceso y es el que se caracteriza por tener un mayor valor que el CaPEX dado la variabilidad y cantidad de insumos a emplearse para el proceso, para nuestro estudio se consideró el valor de OpEx por lote. Se consideran seis categorías como son los: i) Gastos materiales, ii) Gastos de consumibles, iii) Los parámetros dependientes propios del uso de equipos, iv) La mano de obra, v) El Laboratorio de Control y Aseguramiento de la Calidad (Lab, QC, QA), vi) servicios y vii) manejo de residuos líquidos. Para las primeras dos categorías el software simula la cantidad de materiales (*raw material*) necesario para cada unidad operativa (equipo) dentro del proceso, así como la demanda de consumibles (bolsas *single-use*) de los mismos, proyectando de esta forma valores necesarios para producir un lote de ARN-LNP. Para la tercera categoría se consideran los equipos y sus costos de mantenimiento, depreciación, seguros, impuestos locales y gastos de fábrica adicionales todos estos dependientes de del valor DFC previamente calculado; para la cuarta categoría “mano de obra” (Basic operator labour rate, BOLR) se consideró el pago de US\$ 34.5 por hora de un profesional en ingeniería Biotecnológica (<https://estudiaperu.pe/>) sobre este valor se calcularon los beneficios sociales según el régimen tributario general peruano (+un factor de 0.53) (<https://pe.talent.com/tax-calculator>), costos de supervisión, costos de administración y gastos operativos (vestimenta, equipos de protección personal, entre otros).

Para el Lab QC, QA (quinta categoría) se emplearon los valores obtenidos de la categoría mano de obra y fueron establecidos en un 50% de la mano de obra. En el caso de los servicios se contemplaron gastos de energía eléctrica estándar a US \$ 0.095 centavos x KWxh destinado para áreas industriales en Perú ( <https://observatorio.osinergmin.gob.pe/tarifas-electricas-industriales-comerciales-latinoamerica>), el agua

fría fue establecida en US \$ 0.69 centavos por tonelada para un consumo mayor a las 400 toneladas de agua subterránea en Perú ([https://www.sunass.gob.pe/wp-content/uploads/2020/09/np359\\_2017.pdf](https://www.sunass.gob.pe/wp-content/uploads/2020/09/np359_2017.pdf).) ello sin considerar los costos adicionales del proceso de esterilización y tratamientos adicionales que el agua requiere antes de emplearse en bioprocesos, para el caso del agua caliente el valor básico fue multiplicado por un factor de 0.4 para los procesos que manejan dicho tipo de agua y para la obtención de vapor de agua el valor del agua fue multiplicado por el factor 12 para obtener el costo de las corrientes de vapor (los factores empleados fueron estimados según modelos previamente presentados. Adicionalmente se consideró agregar la categoría de manejo de residuos líquidos debido la cantidad de volúmenes de búferes y agua a emplearse durante la producción de ARN-LNP, de esta forma se empleó el valor por defecto del software US \$ 0.04 centavos por Kg (23).

### Referencias importantes:

- Kis Z, Kontoravdi C, Shattock R, Shah N. Resources, Production Scales and Time Required for Producing RNA Vaccines for the Global Pandemic Demand. *Vaccines*. 2020;9(1). doi: 10.3390/vaccines9010003.
- Rosa SS, Prazeres DMF, Azevedo AM, Marques MPC. mRNA vaccines manufacturing: Challenges and bottlenecks. *Vaccine*. 2021;39(16):2190-200. doi: 10.1016/j.vaccine.2021.03.038.
- Kis Z, Shattock R, Shah N, Kontoravdi C. Emerging Technologies for Low-Cost, Rapid Vaccine Manufacture. *Biotechnology journal*. 2019;14(7):1-2. doi:10.1002/biot.201970055.
- Munira SL, Hendriks JT, Atmosukarto II, Friede MH, Carter LM, Butler JRG, et al. A cost analysis of producing vaccines in developing countries. *Vaccine*. 2019;37(9):1245-51. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2018.11.050>.
- Kis Z, Rizvi Z. How to Make Enough Vaccine for the World in One Year. Washington, D.C.: Public Citizen, 2021 May 26, 2021 [Internet]. Report No.: 01. [citado el 12 de diciembre de 2021]. Disponible: <https://www.citizen.org/article/how-to-make-enough-vaccine-for-the-world-in-one-year/>
- Kis Z, Kontoravdi C, Dey AK, Shattock R, Shah N. Rapid development and deployment of high-volume vaccines for pandemic response. *Journal of advanced manufacturing and processing*. 2020;2(3):e10060. doi: 10.1002/amp2.10060.
- Petrides D, Carmichael D, Siletti C, Koulouris A. Biopharmaceutical Process Optimization with Simulation and Scheduling Tools. *Bioengineering*. 2014;1(4):154-87. doi:10.3390/bioengineering1040154.
- Petrides D, Harrison RG, Todd PW, Rudge SR, Petrides DP. Bioprocess Design and Economics. In: Gubbins KE, editor. *Topics in Chemical Engineering. A series of Textbooks and Monographs*. Second ed. Oxford, NY: Oxford University Press; 2003. p. 84.
- Bancel S, Issa William J, Aunins John G, Chakraborty T, inventors; US20160024547A1,WO/2014/152027,PCT/US2014/026835,assignee. *Manufacturing Methods for Production of RNA Transcripts*. EE.UU2014.
- Funkner A, Dörner S, Sewing S, Kamm J, Broghammer N, Ketterer T, et al., inventors; PCT/EP2016/062152,WO/2016/193206, assignee. *A Method for Producing and Purifying RNA, Comprising at Least One Step of Tangential Flow Filtration*2016.

**Tabla S1.-** Lista de costeos ingresados al programa SuperProDesigner para obtener los valores de CapEx y OpEx en el presente estudio.

	<b>Insumos</b>	<b>Código</b>	<b>Marca</b>	<b>Presentación</b>	<b>Costo (US \$)</b>
<b>1</b>	Adenosine 5'-triphosphate (ATP) disodium salt hydrate	A1852-1VL	SIGMA-ALDRICH	30 mg	97.74
<b>2</b>	Cytidine 5'-triphosphate disodium salt hydrate (CTP)	30320-500MG	SIGMA-ALDRICH	500 mg	365.95
<b>3</b>	DTT	3870-25GM	SIGMA-ALDRICH	25 mg	645.05
<b>4</b>	Spermidine trihydrochloride	S2501-25G	SIGMA-ALDRICH	25 g	451.45
<b>5</b>	TRIS HCL	1082199053	SIGMA-ALDRICH	50 Kg	10,121.6
<b>6</b>	GTP	10106399001	SIGMA-ALDRICH	250 mg	229.3
<b>7</b>	Pyrophosphatase, inorganic (PPase)	10108987001	SIGMA-ALDRICH	1 mg	130.69
<b>8</b>	RNAase Inhibitor	3335402001	SIGMA-ALDRICH	10000 U	430.80
<b>9</b>	T7 RNA Polymerase	10881775001	SIGMA-ALDRICH	5000 U	507.24
<b>10</b>	Magnesium chloride	8147339050	SIGMA-ALDRICH	50 Kg	1,922.41
<b>11</b>	DNase I recombinant	4716728001	SIGMA-ALDRICH	10000 U	340.47
<b>12</b>	1,2-Distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (DSPC)	P1138-5G	SIGMA-ALDRICH	5 g	2,235.09
<b>13</b>	3 $\beta$ -Hydroxy-5-cholestene, 5-Cholesten-3 $\beta$ -ol, Colesterol	C3045-100G	SIGMA-ALDRICH	100 g	1,389.69
<b>14</b>	KCL	529552-1KG	SIGMA-ALDRICH	1 Kg	78.75
<b>15</b>	tri-Sodium citrate	1110379026	SIGMA-ALDRICH	25 Kg	803.71
<b>16</b>	Etanol	1009712500	SIGMA-ALDRICH	2.5 L	65.78
<b>17</b>	Sacarosa	84097-5KG	SIGMA-ALDRICH	5 Kg	473.65
<b>18</b>	2-[(polietilenglicol)-2000]-N,N-ditetradecilacetamida (ALC-0159)	34336	CAYMAN	500 mg	985.0
<b>19</b>	((4-hidroxibutil)azanodiil)bis(hexano-6,1-diil)bis(2-hexildecanoato)-(ALC-0315)	34337	CAYMAN	100 mg	624.0
<b>20</b>	Capto™ Core 700	GE17-5481-02	SIGMA-ALDRICH	100 mL	840.31

21	NaOH	06203-4X5KG	SIGMA-ALDRICH	20 Kg	905.86
22	H3PO4	215112-4X2KG	SIGMA-ALDRICH	8 Kg	862.35
23	KH2PO4	1048719100	SIGMA-ALDRICH	100 Kg	2,828.68
24	Na2HPO4	1065859027	SIGMA-ALDRICH	25 Kg	413.42
25*	1-methylpseudouridine-5'-triphosphate (mod-UTP)	N-1081-10	TriLink	1 g	4,700.0
26*	CleanCap AG solution	N-7133 - 10	TriLink	1 g	3,000.0
27	1-methylpseudouridine-5'-triphosphate (mod-UTP)	N-1081-10	TriLink	1 mg	169.24
28	CleanCap AG solution	N-7133 - 10	TriLink	1 mg	125.00
29	Plásmido de ADN grado GMP		Genscript	1g	250,000

### Equipos

1	Allegro™ CM150 Auto Single-Use Tangential Flow Filtration System		SARTORIUS STEDIUM BIOTECH	1	100,000
2	BIOSTAT® B with RM 50 Rocker - MO		SARTORIUS STEDIUM BIOTECH	1	70,000
3	Chromatography System Generic			1	400,000
4	For 1–6 Sartoclear® Depth Filters	2ZGL-0005	SARTORIUS STEDIUM BIOTECH	1	51,359
5	Manifold Set	29Z-S00001	SARTORIUS STEDIUM BIOTECH	1	724.5
6	Palletank 50 L for storage stackable	FXC113946	SARTORIUS STEDIUM BIOTECH	1	3,192
7	Palletank for Mixing -1000L	FXC301956	SARTORIUS STEDIUM BIOTECH	1	28,800
8	Palletank for Mixing -100L	FXC301952	SARTORIUS STEDIUM BIOTECH	1	18,800
9	Palletank for Mixing 50L	FXC301951	SARTORIUS STEDIUM BIOTECH	1	9,120
10	Pressure Safety Device	2ZGL--0014	SARTORIUS STEDIUM BIOTECH	1	3,749
11	Pro Mixer Drive unit	FMD300001	SARTORIUS STEDIUM BIOTECH	1	55,600

---

**Materiales**


---

1	Flexsafe® 3D Pre-Designed - 1000L	FIS126737	SARTORIUS STEDIUM BIOTECH	1	2,394.87
2	Flexsafe® 3D Pre-Designed -50L	FIS127891	SARTORIUS STEDIUM BIOTECH	1	982.1
3	Flexsafe® RM 50L	DFB050L	SARTORIUS STEDIUM BIOTECH	1	3,600
4	Flexsafe® Pro Mixer Bag 50L	FMS500061	SARTORIUS STEDIUM BIOTECH	1	1,344
5	Sartoclear® Single Layer Depth Filters S020	S020 1 29XS020-FCC	SARTORIUS STEDIUM BIOTECH	1	982.1
6	Sartocon® Cassettes 0.6 m <sup>2</sup> 100 kD	302 144 68 06 E—SG	SARTORIUS STEDIUM BIOTECH	1	7,200
7	Sartocon® Slice Holder	17521-001	SARTORIUS STEDIUM BIOTECH	1	6,480
8	Flexsafe® 3D Pre-Designed - 100L	FIS126243	SARTORIUS STEDIUM BIOTECH	1	1,200

Los valores no incluyen IGV, fletes ni gastos de nacionalización. Para el cálculo de los costos de los insumos que contemplaban presentaciones distintas a Kg, g, mL o L, se consideró los costos del mercado americano (Fisher Scientific) y los valores presentados por Zoltán Kis *et al* 2021 para poder estimar una proporción de costos razonable en relación a los costos encontrados para Perú. La información adicional estándar de los procesos, equipamiento, materiales y costos no indicados en presente tabla fueron tomados de la base de datos del programa SuperProDesigner 12.0 Demo version.

Links de acceso:

Sigma-Aldrich ([https://www.sigmaaldrich.com/PE/es?gclid=EAlaIqobChMIj9OV6r7I9AIVDjfiCh2xKg24EAAAYASAAEgJY2\\_D\\_BwE](https://www.sigmaaldrich.com/PE/es?gclid=EAlaIqobChMIj9OV6r7I9AIVDjfiCh2xKg24EAAAYASAAEgJY2_D_BwE))

Cayman Chemical (<https://www.caymanchem.com/>)

Trilink Biotechnologies (<https://www.trilinkbiotech.com/>)

GenScript (<https://www.genscript.com/>)

Fisher Scientific (<https://www.fishersci.com/us/en/home.html>)

\*Precios del año 2020.

**Tabla S2.-** Lista de vacunas ARN consideradas para el presente estudio basadas en registro de DIGEMID hasta octubre 2021.

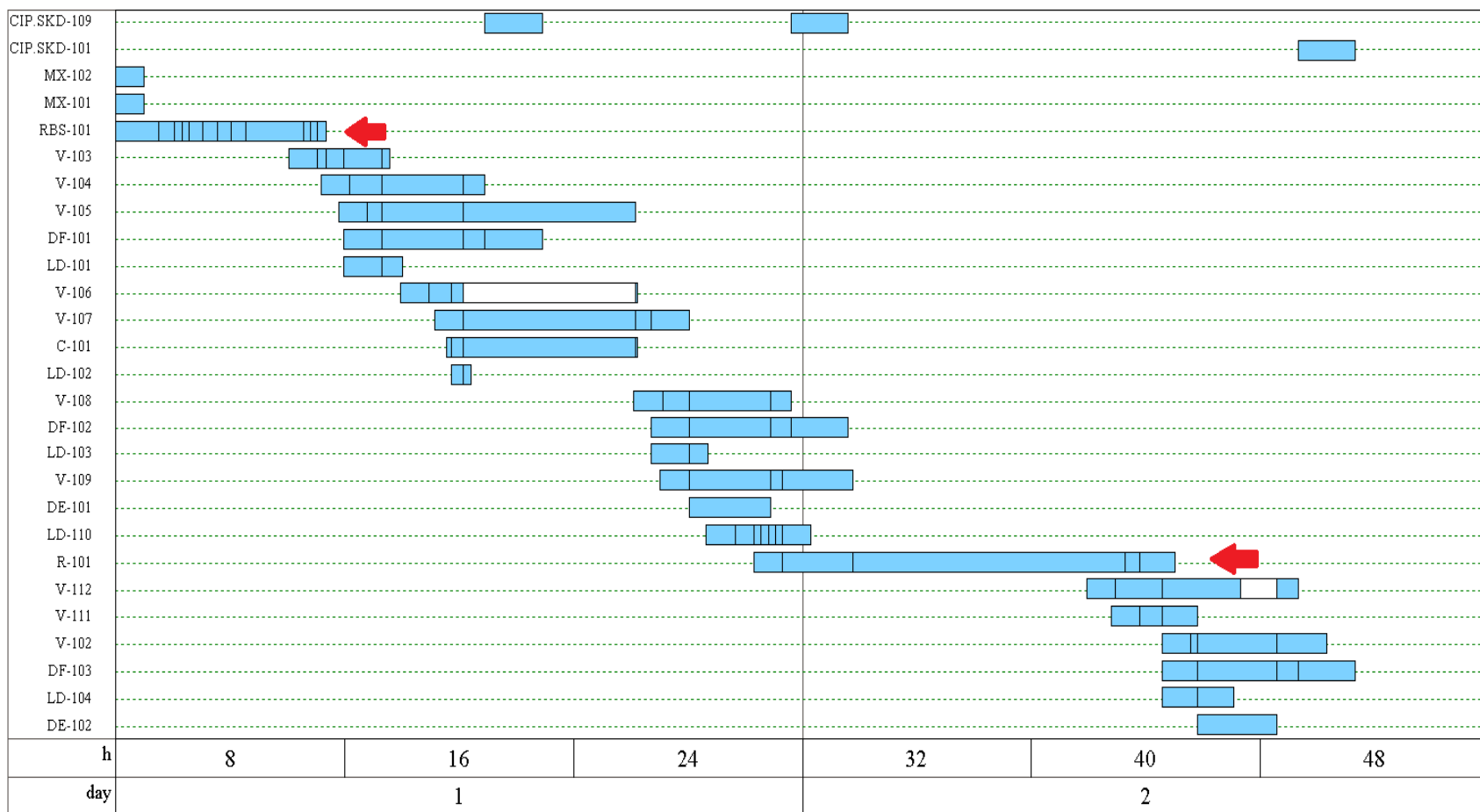
N°	Fabricante	Nombre	Denominación Común Internacional	ARN (µg/Dosis)	Dosis por persona	*UTP	Componentes comunes	Tipo de Autorización DIGEMID
1	Pharmacia & Upjohn Company LLC – EEUU	Comirnaty	Vacuna de ARNm frente a COVID-19 (con nucleósidos modificados)	30	2	Si	((4-hidroxibutil)azanodiil)bis(hexano-6,1-diil)bis(2-hexildecanoato)	RSC – BEC 002-Pfizer
2	Pfizer Manufacturing Belgium NV- Bélgica	Comirnaty	Vacuna de ARNm frente a COVID-19 (con nucleósidos modificados)	30	2	Si	2-[(polietilenglicol)-2000]-N,N-ditetradecilacetamida 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfolina	RSC – BEC 001-Pfizer
3	Pfizer Manufacturing Belgium NV- Bélgica	Comirnaty	Vacuna de ARNm frente a COVID-19 (con nucleósidos modificados)	30	2	Si	Colesterol Cloruro de potasio, dihidrogenofosfato de potasio, cloruro de sodio, fosfato de disodio dihidrato, Sacarosa, agua para preparación de inyectables	COVAX Facility

\*Uridina 5'-triphosphate (UTP) modificada = N1-methylpseudouridine-5'-triphosphate = mod-UTP

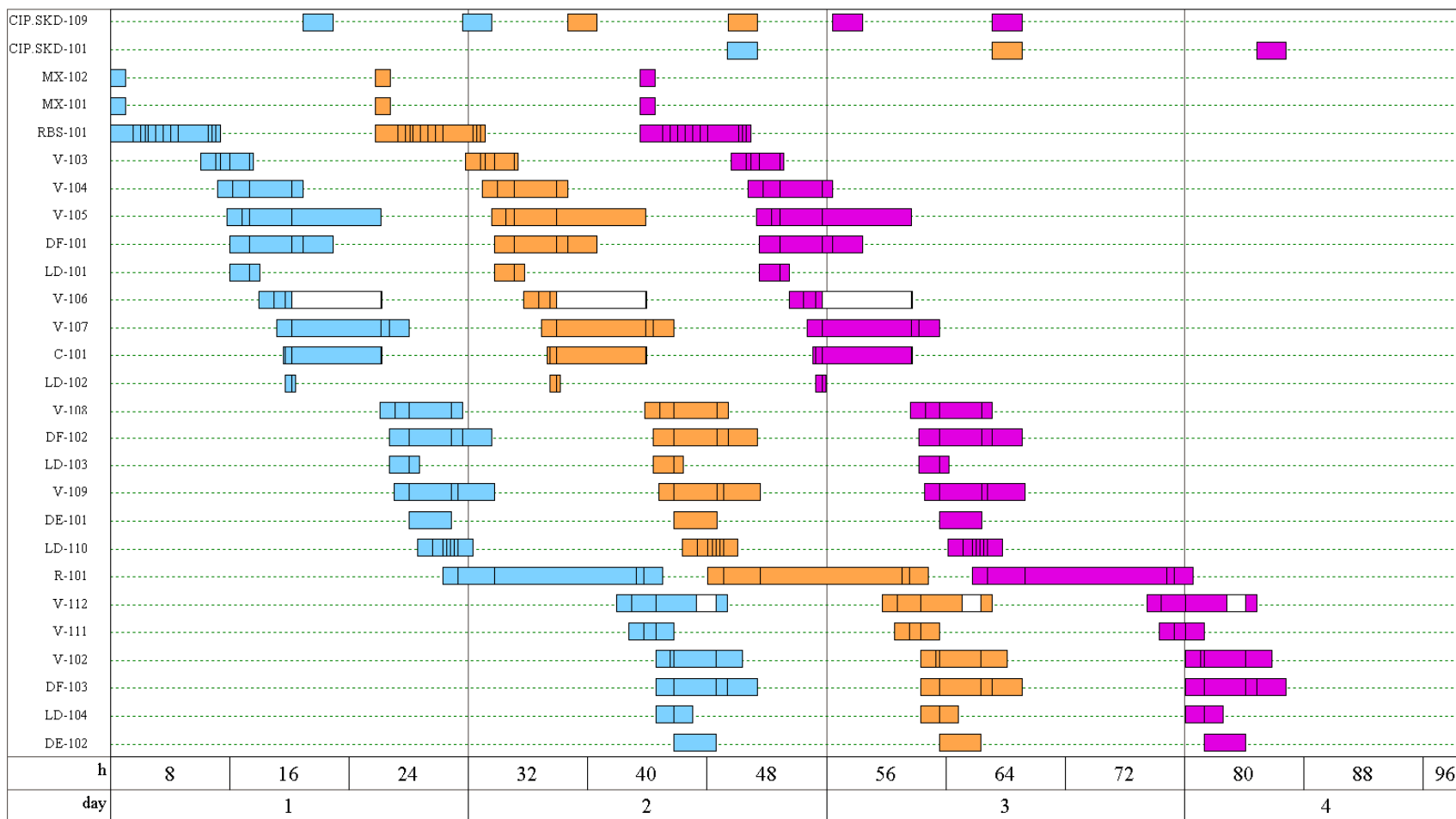
RSC: Registro Sanitario Condicional.

**Tabla S3.-** Lista de consumo de materiales obtenidos a partir del OpEx anual y por lote expresados en Kg del material.

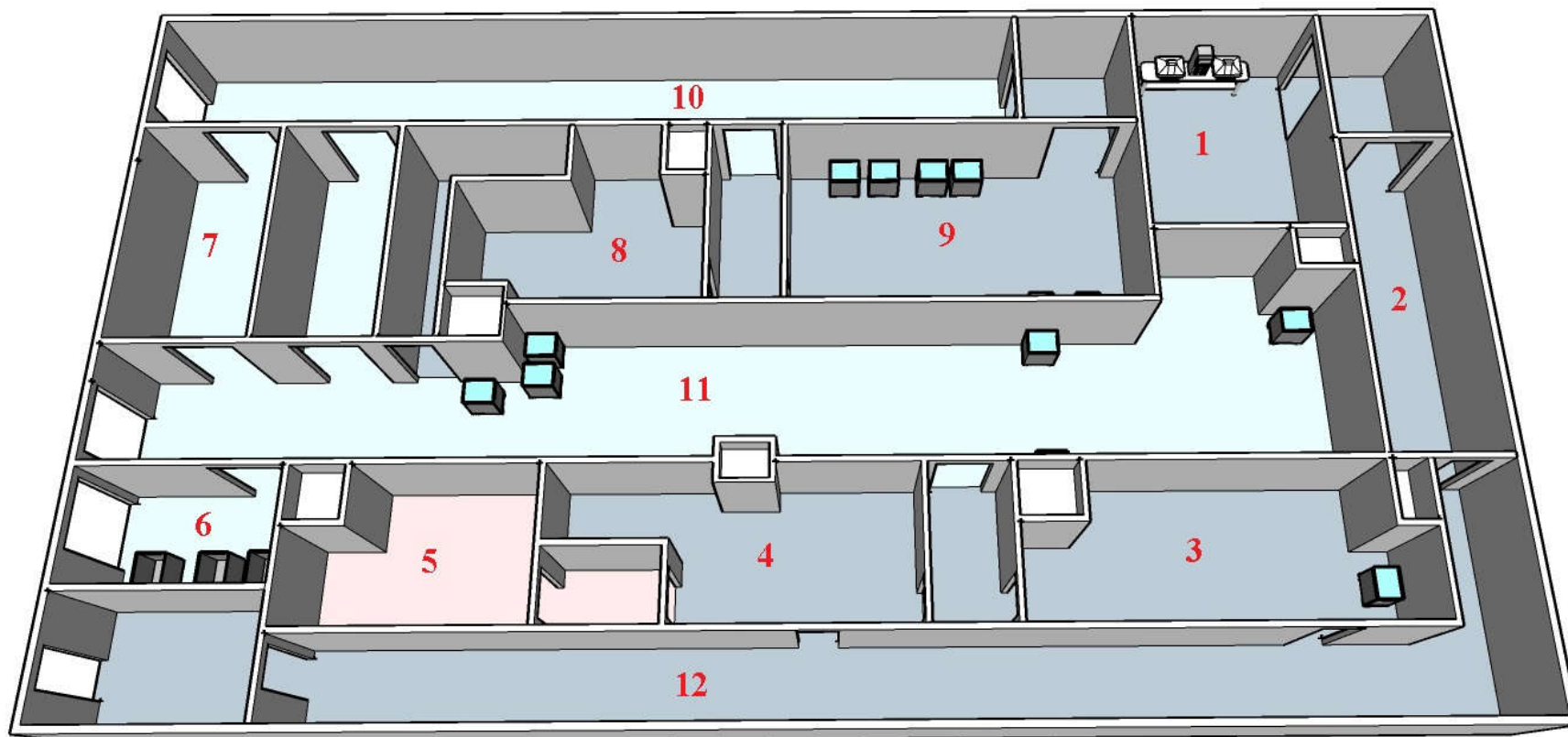
<b>Material</b>	<b>kg/anual</b>	<b>kg/batch-lote</b>
0.1 M CaCl <sub>2</sub>	3.39	0.01
0.1 M Spermidin	33.12	0.07
1 M DTT	18.97	0.04
1 M MgCl <sub>2</sub>	9.94	0.02
1 mg/mL DNA tem	7.44	0.02
100 mM ATP	66.25	0.15
100 mM Cl <sub>2</sub> CapAG	67.28	0.15
100 mM CTP	66.25	0.15
100 mM GTP	66.25	0.15
100 mM UTP	66.25	0.15
1M Tris HCL	144.12	0.32
250 mM KCl	243,161.45	547.66
Cholesterol	16.90	0.04
DNase I Roche S	0.37	0.00
Ethyl Alcohol	13,721.44	30.90
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> (5% w/w)	444,555.00	1,001.25
Ionizable lipid	39.08	0.09
NaOH (0.5 M)	339,993.00	765.75
NaOH (1 M)	16.55	0.04
PBS	2,333,734.85	5,256.16
PEG lipid	4.82	0.01
phospholipid	8.49	0.02
PPase Roche Sol	59.52	0.13
RNase inhib sol	8.39	0.02
Sodium acetat01	48,149.49	108.44
Sodium Citrate	112,431.97	253.23
SoIT7 Pol Roch	14.88	0.03
Sucrose	114.27	0.26
Tris-HCl 1x Buf	15,385.80	34.65
Water, RNase Free	1,096.73	2.47
WFI	1,987,419.24	4,476.17
<b>TOTAL</b>	<b>5,540,481.47</b>	<b>12,478.56</b>



**Figura S1.- Esquema de uso de los equipos durante un batch o lote en la producción de vacunas ARN.** El eje y indica los códigos de cada equipo dentro del proceso (los códigos CIP.SKD-109 y 101, representan procesos de limpieza en el equipo de DF-101, DF-102 y DF-103); y el eje x indican las horas que dura el proceso. Las flechas rojas señalan las etapas con los equipos cuyos usos son considerados como pico de botella (RBS-101 y R-101).



**Figura S2.- Esquema de uso de los equipos durante múltiples lotes en la producción de vacunas ARN.** El eje y indica los códigos de cada equipo dentro del proceso (los códigos CIP.SKD-109 y 101, representan procesos de limpieza en el equipo de DF-101, DF-102 y DF-103); y el eje x indican las horas. Cada color resalta un lote en particular. (Celeste: Lote 1, Naranja: Lote 2, Morado: lote 3).



**Figura S3.- Diseño de las facilidades adaptadas al proceso presentado en este estudio (manufactura primaria y secundaria) destinado para la producción de vacunas ARN.** Las áreas se encuentran señalizadas en números y corresponden a uno o varios procesos involucrados. 1: Síntesis *in vitro* de ARN (RBS-101) y almacenamiento (V-103). 2: Primera filtración tangencial (TFF1-DF-101), cromatografía por exclusión (C-101), Segunda filtración tangencial (TFF2-DF-102), Primer filtrado estéril (DE-101) y almacenamiento (V-109). 3: Generación de ARN-LNP (R-101) y almacenamiento (V-111). 4: Tercera filtración tangencial (TFF3-DF-103) y Segunda filtración estéril (DE-102) y almacenamiento (V-102). 5: Área de llenado y envasado. 6: Almacén de tanques, 7: Laboratorio de control de calidad. 8: Área de lavado. 9: Área de preparación de búferes. 10: Corredor de abastecimiento de insumos. 11: Corredor de distribución de insumos y materiales. 12: Corredor de personal. El esquema de la facilidad fue adaptado de Kinnevy Erin *et al* 2015 y rediseñada empleando los programas Sketchup Pro 2021 v21 y SuperProDesigner v12.

## Este preprint fue presentado bajo las siguientes condiciones:

- Los autores declaran que son conscientes de que son los únicos responsables del contenido del preprint y que el depósito en SciELO Preprints no significa ningún compromiso por parte de SciELO, excepto su preservación y difusión.
- Los autores declaran que se obtuvieron los términos necesarios del consentimiento libre e informado de los participantes o pacientes en la investigación y se describen en el manuscrito, cuando corresponde.
- Los autores declaran que la preparación del manuscrito siguió las normas éticas de comunicación científica.
- Los autores declaran que los datos, las aplicaciones y otros contenidos subyacentes al manuscrito están referenciados.
- El manuscrito depositado está en formato PDF.
- Los autores declaran que la investigación que dio origen al manuscrito siguió buenas prácticas éticas y que las aprobaciones necesarias de los comités de ética de investigación, cuando corresponda, se describen en el manuscrito.
- Los autores declaran que una vez que un manuscrito es postado en el servidor SciELO Preprints, sólo puede ser retirado mediante solicitud a la Secretaría Editorial deSciELO Preprints, que publicará un aviso de retracción en su lugar.
- Los autores aceptan que el manuscrito aprobado esté disponible bajo licencia [Creative Commons CC-BY](#).
- El autor que presenta el manuscrito declara que las contribuciones de todos los autores y la declaración de conflicto de intereses se incluyen explícitamente y en secciones específicas del manuscrito.
- Los autores declaran que el manuscrito no fue depositado y/o previamente puesto a disposición en otro servidor de preprints o publicado en una revista.
- Si el manuscrito está siendo evaluado o siendo preparando para su publicación pero aún no ha sido publicado por una revista, los autores declaran que han recibido autorización de la revista para hacer este depósito.
- El autor que envía el manuscrito declara que todos los autores del mismo están de acuerdo con el envío a SciELO Preprints.