

REVISTA

CIENCIA Reguladora



CICLOFOSFAMIDA INYECTABLE:

Primera investigación del Programa de Vigilancia Farmacéutica Activa

anmat 

ARTICULOS ORIGINALES

Metodologías analíticas

*Cuantificación de fluconazol en ensayo de disolución;
Detección de Salmonella spp. en fórmula para lactantes*

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Vacuna de Hepatitis B:
Registro y métodos de valoración

ENFOQUE REGULATORIO

Dispositivo de tabaco sin combustión
Nanotecnología en medicamentos
El Observatorio ANMAT

ESTADO DE SITUACIÓN

COPROSAL MERCOSUR



AUTORIDADES

Presidente de la Nación

Ing. Mauricio MACRI

Jefe de Gabinete de Ministros

Lic. Marcos PEÑA

Ministro de Salud

Prof. Dr. Adolfo RUBINSTEIN

Secretaría de Regulación y Gestión Sanitaria

Dra. Josefa RODRÍGUEZ RODRÍGUEZ

Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica

Dr. Carlos CHIALE - Administrador Nacional

Dr. Roberto LEDE - Sub Administrador Nacional

EQUIPO EDITORIAL

Dirección de Recursos Humanos y Organización

Sra. Nélide MORINIGO

Coordinación de Capacitación e Investigación Científica Sanitaria

Lic. Karina BALBUENA

Servicio de Investigación

Bioq. Gabriel Leandro LEPERA

Farm. Betina DOCTOROVICH

Lic. Cecilia VÁZQUEZ

Lic. Agustín MARTILOTTA

Lic. Marcelo MAITO

DISEÑO Y DIAGRAMACION

Dirección de Relaciones Institucionales y Regulación Publicitaria

Lic. Sebastián DUARTE

Lic. Rodrigo PIÑEIRO

D.G. Federico TORRADO

ÍNDICE

Trabajos Originales

Desarrollo y validación de una metodología de cuantificación de fluconazol por UHPLC para emplear en el ensayo de disolución de comprimidos 06
Natalia Villegas y col.

Ciclofosfamida inyectable:
Primera investigación del Programa de Vigilancia Farmacéutica Activa 11
Verónica Llauro, Estefanía Gerez, Adriana Fernandez y col.

Verificación intralaboratorio de la norma iso 6579:
Método horizontal para la detección de *salmonella* spp. en fórmula en polvo para lactantes 16
Mariela A. Freschi y col.

Revisión Bibliográfica

Vacuna de Hepatitis B: Productos registrados en Argentina y métodos generales de valoración de potencia..... 20
María Herminia Mogetta y col.

Enfoque Regulatorio

Dispositivos de tabaco sin combustión 23
Emilce Vicentin y col.

La aplicación de la nanotecnología en medicamentos: Oportunidades y desafíos 27
Ismael D. Bianco y col.

El observatorio ANMAT y la Ciencia Reguladora: Saber dónde se quiere ir... 30
María S. Navarre y col.

Estado de Situación

La Comisión de Productos para la Salud. Marco, misión y estado de la convergencia regulatoria de los estados parte del Mercosur 32
Marcelo A. Maito, Valeria T. Garay



La gestión del conocimiento en la ANMAT Knowledge Management at ANMAT

Palabras claves: conocimiento explícito, conocimiento tácito, mapa de conocimiento, memoria institucional

Key words: explicit knowledge, tacit knowledge, knowledge map, institutional memory

La ANMAT, desde su creación en el año 1992, ha implementado distintas estrategias que contribuyeron a utilizar eficazmente los recursos públicos con el fin de legitimar sus vínculos con la sociedad. En este marco, la formación de sus funcionarios siempre estuvo orientada a optimizar las acciones de fiscalización de los productos para la salud que utiliza la población. En la actualidad, la ANMAT es un organismo reconocido tanto a nivel nacional como internacional, sin embargo, nuevos desafíos se nos presentan. La capacitación y actualización de los recursos humanos de la ANMAT requiere de una mirada crítica que establezca los nuevos alcances de los ejes del conocimiento, del saber y de los mecanismos que promueven el aprendizaje en las instituciones.

El campo de la gestión del conocimiento (GC) ha tenido un impulso desde la década de los 80 que se evidencia en el aumento de publicaciones científicas sobre el tema (Da Silva, 2004). Actualmente, se constata un impulso de las prácticas de GC en diversos sectores, entre los cuales, el ámbito de la salud pública no está ajeno.

La **GC** surge como un campo de acción distinto y busca impulsar en las organizaciones su capacidad de innovación, acercándolas a lo que se ha dado en llamar la esencia de las organizaciones que aprenden (*learning organizations*).

A nivel organizacional, la GC se entiende como un macroproceso de gestión, el cual incluye otras acciones frecuentemente asociadas, tales como identificar, convertir, anclar, adquirir o desarrollar conocimientos estratégicos y, según se precise, para dar lugar posteriormente a codificar, almacenar, distribuir, utilizar y optimizar el conocimiento organizacional.

En líneas generales, el conocimiento en una organización se clasifica en **conocimiento explícito** y **conocimiento tácito**. El primero puede ser documentado, por lo tanto, acumulado y transmitido; es cristalizado en manuales, procedimientos e informes. El segundo, por su parte, es el saber de las personas, es histórico, construido a través de su experiencia en la institución; estos saberes suelen ser difíciles de comunicar, compartir y transferir.

La clave del proceso de innovación se fundamenta en la identificación y complementación entre ambos. Es decir, cuando el conocimiento tácito y el conocimiento explícito interactúan entre sí, promueven la innovación. Desde este enfoque, los procesos de enseñanza y aprendizaje en la organización superan el ámbito áulico y se instalan también en las relaciones cotidianas entre las personas de una institución que comparten ideas, información y experiencias que contribuyen a enriquecer sus competencias laborales.

No debemos dejar de lado que los procesos de modernización del Estado que atravesamos en estos años, generan una fuerte presión sobre los trabajadores para la incorporación del avance tecnológico con herramientas informáticas. No obstante, estas instancias sólo movilizan el conocimiento explícito (que se traducen en capacitaciones puntuales que obedecen a la práctica de los procedimientos informáticos), dejando de lado el conocimiento tácito. Habitualmente las instituciones “no saben todo lo que saben... desconocen el conocimiento que realmente poseen...” (Falivane & Retti, 2007).

En este punto, nos enfrentamos a la necesidad de construir un **mapa de conocimiento** que dé cuenta de los conocimientos existentes (explícitos y tácitos), de las actualizaciones que deban ser realizadas y de los vacíos que deben ser cubiertos.

La publicación de la Revista Ciencia Reguladora intenta dar cuenta de estos procesos, comunicando experiencias significativas de la práctica laboral, dando cuenta de saberes que precisan ser socializadas en tanto son productos de una experiencia colectiva. Entendemos que a través de estas iniciativas promovemos la gestión del conocimiento en la ANMAT y contribuimos a mantener la **memoria institucional**.

Estamos convencidos que es estratégico dar continuidad y fortalecer políticas y acciones de desarrollo de capital humano a partir de una gestión del conocimiento con propósitos formativos que contribuirá a preservar, incrementar, aprovechar, recrear y perfeccionar los conocimientos colectivos y necesarios para el funcionamiento institucional.

Lic. Karina Balbuena

Coordinadora de Capacitación e Investigación Científica Sanitaria
Dirección de Recursos Humanos y Organización – ANMAT

DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE UNA METODOLOGÍA DE CUANTIFICACIÓN DE FLUCONAZOL POR UHPLC PARA EMPLEAR EN EL ENSAYO DE DISOLUCIÓN DE COMPRIMIDOS

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF UHPLC METHOD FOR FLUCONAZOLE QUANTIFICATION IN TABLETS DISSOLUTION TEST

V. Natalia Villegas, O. Silvia I. Kruzylko, Marcelo H. Suárez, Graciela R. Pesce

Departamento de Galénica y Biofarmacia, Instituto Nacional de Medicamentos, Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica

Contacto: gpesce@anmat.gov.ar

RESUMEN

El fluconazol es un agente antimicótico, ampliamente utilizado en la prevención y tratamiento de infecciones fúngicas. Actualmente, las técnicas empleadas para la valoración de este activo se realizan por Cromatografía Líquida de Alta Performance (HPLC, por sus siglas en inglés), la cual insume mayor tiempo y gasto de solventes que las nuevas tecnologías por Cromatografía Líquida de Ultra Alta Performance (UHPLC, por sus siglas en inglés). Por esta razón, desde nuestro laboratorio se llevó a cabo el desarrollo y la validación de una nueva metodología por UHPLC con el objeto de valorar fluconazol en un ensayo de disolución de comprimidos. La misma emplea como sistema de detección un detector ultravioleta-visible ($\lambda=260\text{nm}$), fase móvil compuesta por una mezcla de acetonitrilo:agua (25:75) y columna de fase reversa (C18) a una temperatura de 40°C . Los correspondientes ensayos de validación mostraron que la metodología desarrollada es selectiva, lineal, exacta y precisa para concentraciones entre 14 y $278\ \mu\text{g}/\text{mL}$, se probó que es robusta frente a pequeñas modificaciones del sistema, permitió ahorrar un 91% de acetonitrilo y fue aproximadamente 4 veces más rápida que la codificada en USP para comprimidos de fluconazol.

Palabras clave: fluconazol, HPLC, UHPLC, validación, disolución

ABSTRACT

Fluconazole is an antifungal agent widely used in prevention and treatment of fungal infections. Currently, quantification methodologies are performed by High Performance Liquid Chromatography (HPLC), which normally takes more time and solvent consumption than the new technologies by Ultra High Performance Liquid Chromatography (UHPLC). For this reason, we carried out the development and validation of a new UHPLC methodology in order to evaluate fluconazole in a tablet dissolution test. It

uses ultraviolet-visible detector ($\lambda = 260\text{nm}$), a mobile phase composed of a mixture of acetonitrile:water (25:75) and a reverse phase column (C18) at a temperature of 40°C . The corresponding validation tests showed that the methodology is selective, linear, accurate and precise for concentrations between 14 and $278\ \mu\text{g}/\text{mL}$, robust against small system modifications, it allowed to save 91% of acetonitrile and it was approximately 4 times faster than USP fluconazole tablets dissolution test.

Key words: fluconazole, HPLC, UHPLC, validation, dissolution

1. INTRODUCCIÓN

El fluconazol forma parte de la Lista de Medicamentos Esenciales de la Organización Mundial de La Salud OMS^[1] y es empleado en infecciones fúngicas y en la prevención y tratamiento en pacientes con sistemas inmunitarios débiles^[2-3]. Por sus características de solubilidad y permeabilidad se lo incluyó en la Clase 1 del Sistema de Clasificación Biofarmacéutica^[4-5]. Los productos que contienen Ingredientes Farmacéuticos Activos (IFAs) de esta clase pueden demostrar su bioequivalencia por medio de ensayos de disolución comparativos^[6]. Estos ensayos comprenden varios centenares de inyecciones cromatográficas, por lo que toda mejora en tiempos de corrida y cantidad de solvente será beneficiosa tanto en términos económicos como de protección del medio ambiente. A ese fin, se transfirió la metodología HPLC de cuantificación del test de disolución para comprimidos de fluconazol, codificada en la Farmacopea de los Estados Unidos (USP) 40 Edición^[7], a una técnica de UHPLC que luego fue validada según Farmacopea Nacional Argentina (FNA), 7^{ma} Edición^[8], el capítulo <1092> de USP 40 Edición^[9] y la disposición ANMAT 6766/16^[6].

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Equipos y condiciones cromatográficas

Se utilizó un cromatógrafo líquido marca Shimadzu®, modelo Nexera X2 que consiste en dos bombas modelo LC-30 AD, un sistema de control modelo CBM-20A, un inyector automático SIL 30-AC, un horno de columna CTO-30A y un detector ultravioleta con arreglo de diodos SPD-M20A. El software utilizado para el tratamiento de los datos fue el LabSolutions versión 5.54 SP2. El análisis cromatográfico se realizó a 40°C con una columna Kinetex C18 fase reversa, 2,1 µm, 100 × 2,6 mm (Phenomenex®). El detector ultravioleta-visible se monitorizó a una longitud de onda fija de 260 nm. La fase móvil fue ACN: H₂O (25:75), el modo de elución fue isocrática a un flujo de 0,4 ml/min.

3. SUSTANCIAS Y REACTIVOS

Se utilizó estándar primario de fluconazol Farmacopea Argentina, SR-FA (lote 112010), agua desionizada, metanol y acetonitrilo (todos grados HPLC).

Preparación de placebo. Se emplearon excipientes presentes en la mayoría de los productos del mercado nacional: celulosa micro cristalina, almidón glicolato sódico, croscarmelosa sódica, dióxido de silicio, estearato de magnesio, lactosa, hidroxipropilmetilcelulosa, propilenglicol, talco, dióxido de titanio y almidón de maíz.

Preparación de soluciones de trabajo. La solución madre se preparó transfiriendo 55,5 mg de fluconazol exactamente pesados, a un matraz de 100 ml, y llevando a volumen con metanol. Las soluciones de trabajo se obtuvieron diluyendo la solución madre con un volumen adecuado de agua hasta obtener los niveles de concentración estudiados 6,25-125 % de la cantidad teórica declarada como 100 % (222 µg/ml), equivalentes a 14; 28; 56; 111; 167; 222 y 278 µg/ml, respectivamente.

4. SECCIÓN EXPERIMENTAL

Transferencia, desarrollo y optimización del sistema cromatográfico. A partir del Test de disolución 2 codificado en la monografía de fluconazol comprimidos en la USP^[7] se realizaron distintos ajustes para lograr condiciones cromatográficas óptimas en UHPLC.

Para la evaluación de la idoneidad del sistema cromatográfico, se preparó una solución al 100% de estándar y se inyectó por sextuplicado. Se determinaron la repetibilidad (expresada como coeficiente de variación, CV), el número de platos teóricos, el factor de asimetría y la resolución.

Estabilidad. Se preparó una solución al 100% de estándar de fluconazol (222 µg/ml) y otra solución de placebo cargado con estándar de fluconazol al 100%. Cada una se inyectó por triplicado. Luego de la lectura inicial, se dejaron las dos soluciones a temperatura ambiente en el automuestreador y se volvieron a inyectar a las 24, 48 y 96 horas. Se compararon las lecturas obtenidas a los distintos tiempos con las del tiempo cero.

Selectividad. Se analizaron por triplicado una solución de metanol al 40% (concentración final de metanol en el estándar), 3 soluciones de placebo y 3 soluciones de placebo más estándar de fluconazol. Se registraron los cromatogramas a fin de determinar posibles señales que interfirieran con el

analito de interés. Asimismo, la especificidad fue corroborada a través del estudio de la pureza de pico cromatográfico.

Linealidad. Se estudiaron 7 niveles de concentración de fluconazol realizando 3 determinaciones independientes y se midieron las áreas por triplicado. El rango evaluado fue 6,25-125 % de la cantidad teórica declarada como 100 % (222 µg/ml), equivalentes a 14; 28; 56; 111; 167; 222 y 278 µg/ml, respectivamente. A partir de los datos obtenidos, se construyó una curva de calibración de área vs. concentración teórica (µg/ml).

La linealidad se verificó mediante el tratamiento estadístico de los datos a través del coeficiente de correlación (r^2), y del análisis de la varianza (F) de la curva de regresión, ajustada por el método de los mínimos cuadrados para el 95 % de confianza. Por otro lado, se realizó la prueba de significación del intercepto y la pendiente mediante la prueba t de Student.

Precisión. Se evaluaron la repetibilidad y precisión intermedia. Para ello, se estudiaron 3 niveles de concentración de fluconazol realizando 3 determinaciones independientes y se midieron las áreas por triplicado. Las concentraciones evaluadas fueron 6,25%, 100% y 125%, equivalentes a 14; 222 y 278 µg/ml, respectivamente. En el ensayo de precisión intermedia participaron dos analistas en dos días diferentes.

Exactitud. Se analizaron por triplicado 3 réplicas de placebos cargados con cantidades equivalentes al 6,25, 100 y 125% con respecto a la cantidad teórica declarada de fluconazol. Además, se calculó el porcentaje de recuperación promedio (R) y el CV_{total}. Finalmente, se aplicó la prueba t de Student para evaluar si existían diferencias significativas entre los valores de recuperación media obtenidos con las réplicas de las soluciones al 100% de fluconazol.

Robustez. Para la determinación de los factores que afectan al método se aplicó el test de Youden y Steiner^[10-11], el cual permitió evaluar el efecto de 7 variables con 8 experimentos independientes. Los factores evaluados fueron lote de columna de un mismo fabricante (H15-172685 y H15-172684), porcentaje de acetonitrilo de la fase móvil (25 y 30%), temperatura de la columna (40 y 37°C), flujo de la fase móvil (0,4 y 0,37 ml/min), volumen de inyección (2,0 y 1,9 µl), longitud de onda (260 y 262 nm) y temperatura de la celda del detector (40 y 37°C).

Tanto el orden de los ensayos como el de los factores se establecieron de forma aleatoria. Para cada ensayo se realizaron tres determinaciones de una solución al 100% de fluconazol.

La variación en los resultados por cambios en los factores estudiados se calculó como la diferencia entre el promedio de los valores de respuesta obtenidos para el nivel superior del efecto y el promedio de los valores de respuesta obtenidos para el nivel inferior del efecto. Se tomó como valor de referencia para las diferencias, el resultante de multiplicar la raíz de 2 por la desviación estándar obtenida en el estudio de precisión (repetibilidad) para la concentración equivalente al 100% de fluconazol.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Transferencia, desarrollo y optimización del sistema cromatográfico

Luego de realizar diversos ajustes para la adecuación del método, se definieron las condiciones de trabajo que se detallan en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Valores Optimizados para la Separación Cromatográfica

Condición cromatográfica	Valor Optimizado
Flujo	0,4 ml/min
Fase Estacionaria	columna C18 (100mm x 2,6 mm x 2,1 µm)
Temperatura de la celda	40°C
Temperatura de la columna	40 °C
Longitud de onda	260 nm
Volumen de inyección	2 µl
Tiempo de corrida	2 min

En cuanto a la idoneidad del sistema, se encontró una resolución (R) entre picos de 8,8 ($R > 2$) para el fluconazol y el metanol al 40% y un factor de asimetría al 5% (F) de 1,4 ($F < 2$). El número de platos teóricos (N) fue 6651 ($N > 2000$) y el coeficiente de variación (CV) de la repetibilidad fue de 0,1% ($CV < 2\%$). En la **Figura 1** se muestra un cromatograma representativo.

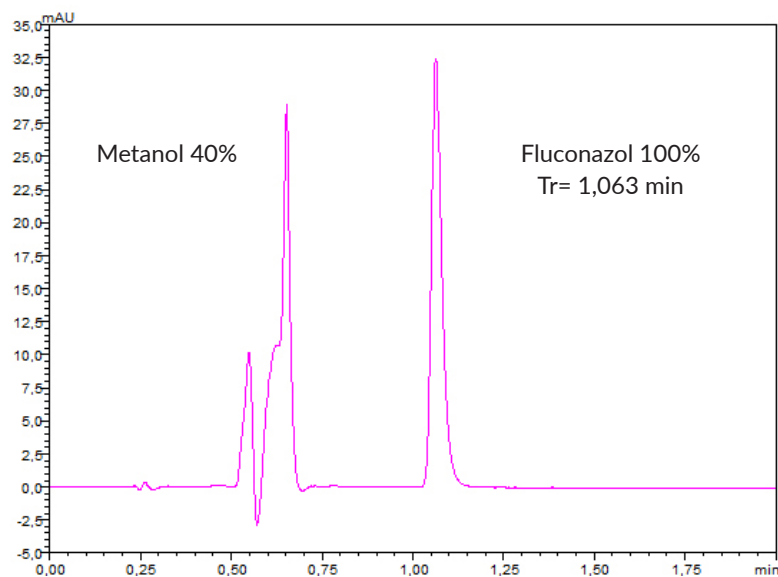


Figura 1. Cromatograma representativo de la solución de estándar de fluconazol.

Estabilidad. En la **Tabla 2** se observa que el porcentaje de fluconazol en las soluciones de estándar y estándar más placebo se mantuvo estable a lo largo del tiempo estudiado (especificación: 98,0 – 102,0% de la concentración inicial)

Tabla 2. Resultados del Ensayo de Estabilidad

Solución analizada	% de Fluconazol			
	0 hs	24 hs	48 hs	96 hs
Fluconazol al 100 %	100,0%	100,0%	99,9%	99,8%
Placebo + estándar 100%	100,0%	99,9 %	99,6%	99,4%

Selectividad. No se observaron señales interferentes con el fluconazol tanto para el solvente como para el estándar (**Figura 2**) ni los excipientes (**Figura 3**). Mientras que en la evaluación de pureza de pico (detector de arreglo de diodos) (**Figura 4**), no se detectaron compuestos que coeluyan con el fluconazol. Estos resultados demostraron que el método fue selectivo.

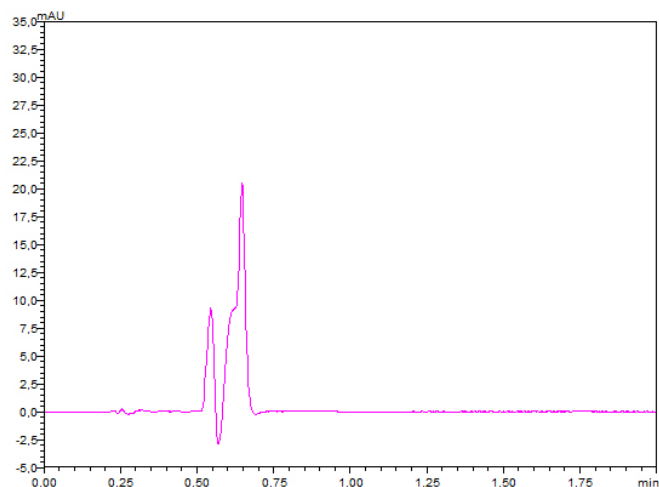


Figura 2. Cromatograma de solución metanol al 40%.

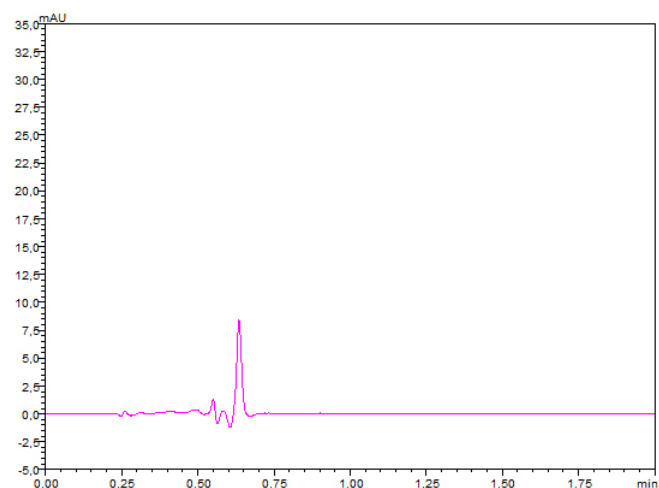


Figura 3. Cromatograma de solución placebo.

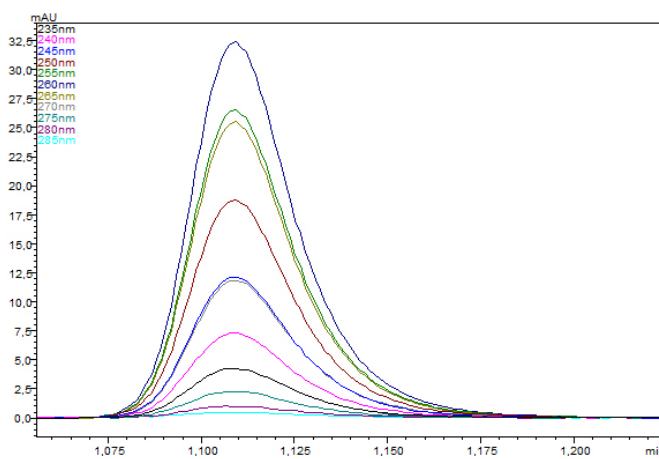


Figura 4. Pureza de pico (espectros UV).

Linealidad. Los resultados del ensayo de linealidad (Tabla 3 y Figura 5) mostraron una correlación lineal entre el área y la concentración dentro del rango estudiado.

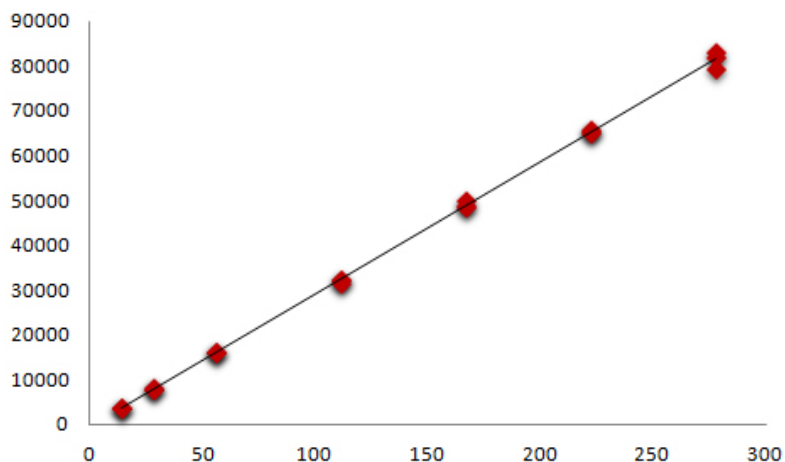


Figura 5. Curva de calibración, Área vs Concentración (µg/mL)

Como se observa, el coeficiente de determinación (r^2), es mayor a 0,99 ($r^2=0,9994$). Asimismo, en la Figura 5 se demuestra que existe una correlación lineal en el rango de trabajo seleccionado.

Tabla 3. Resultados de la Linealidad.

Prueba	Parámetro	Fluconazol		
		t exp	Límite Superior	Límite inferior
t	Intercepto	-1,076	266,953	-831,990
	Pendiente	175,462	298,507	291,469
	Coefficiente de Determinación (r^2)	0,9994		
F	Regresión	30786,976		

El análisis de varianza mediante un test F, demostró una regresión significativa ($F_{exp} > F_{tab} = 4,381$). Por otra parte, según el test de Student se encontró que el intercepto no fue estadísticamente diferente de cero ($t_{exp} < t_{tab} = 2,093$) y la pendiente fue estadísticamente distinta de cero ($t_{exp} > t_{tab} = 2,093$).

Precisión. El método demostró ser repetible ya que, para cada uno de los niveles de concentración evaluados, se obtuvieron coeficientes de variación (CV) < 1,5 %.

Los resultados obtenidos para el ensayo de precisión intermedia demostraron que el método fue preciso, independientemente del analista y del día en que se realizó el análisis; porque se obtuvo un coeficiente de variación total (CV_{total}) < 2 % (Tabla 4).

Tabla 4. Resultados De La Precisión Intermedia.

Concentración (%)	Analista 1			Analista 2		
	Promedio de Áreas	Desviación Estándar	CV (%)	Promedio de Áreas	Desviación Estándar	CV (%)
6,25	3769,67	37,00	0,98	3749,89	27,01	0,72
100	62679,11	189,66	0,30	62573,11	100,60	0,16
125	78487,67	597,02	0,76	79009,33	467,30	0,59
CV _{total} (%):					0,62	

Exactitud. Los resultados obtenidos (Tabla 5) demostraron que el método propuesto cumple con los criterios de exactitud estipulados en la bibliografía.

Tabla 5. Resultados de la exactitud

Concentración (%)	Recuperación (%)			CV _{total} (%)	Prueba t	
	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3		t exp.	t tab.
6,25	101,5	99,1	100,2	0,69	0,688	2,306
100	99,5	100,0	100,1			
125	100,3	100,1	100,7			

Los porcentajes de recuperación obtenidos se encontraron entre 99,1 y 101,5% (especificación: 98,0 – 102,0%). El porcentaje de recuperación promedio fue 101,2% y el CV_{total} 0,69%. Por otro lado, el valor de t experimental fue menor que el valor t tabulado por lo que no existieron diferencias estadísticamente significativas entre el porcentaje de recuperación promedio medio y el 100 %, demostrando que la técnica es exacta y no se ve afectada por errores sistemáticos de forma significativa.

Robustez. A partir de los resultados obtenidos (Tabla 6), se pudo concluir que la metodología es robusta y no se ve afectada por el cambio de lote de columna del mismo fabricante y pequeñas variaciones en el porcentaje de acetonitrilo en la fase móvil. Por el contrario, se observó que la metodología es sensible frente a cambios en el volumen de inyección, longitud de onda de la determinación, flujo de la fase móvil y la temperatura de la celda del detector y la columna.

Tabla 6. Valores de las diferencias encontradas para cada factor.

Factor	Diferencia
Lote de columna	-248
% acetonitrilo en fase móvil	-97,83
Temperatura de la Columna (°C)	293,42
Flujo (ml/min)	-3333,33
Longitud de onda del detector (nm)	639,83
Volumen de inyección (µL)	4317,5
Temperatura de la celda (°C)	-595,5

Valor de referencia: $1,4142 \times 189,66 = 268,22$

6. CONCLUSIONES

Se realizó una transferencia de metodología de HPLC a UHPLC para la cuantificación de fluconazol en comprimidos provenientes de un ensayo de disolución.

La metodología desarrollada y validada demostró ser selectiva, lineal, precisa y exacta, y robusta frente a pequeñas modificaciones. Además, resultó ser aproximadamente 4 veces más rápida y ahorrar un 91% de acetonitrilo que la codificada en USP. Esto supondría una gran ventaja no sólo en el control de calidad sino también en estudios de bioexenciones en donde se emplearían aproximadamente 26,4 horas y 160 ml de acetonitrilo en lugar de 99 horas y 1,7 litros de acetonitrilo.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. *Model List of Essential Medicines, 20th List, World Health Organization, 2017.*
2. Corrêa J. C.R., Salgado H. R. N. *Review of fluconazole properties and analytical methods for its determination, Critical Reviews in Analytical Chemistry, 41 (2): 124–132, 2011.*
3. Wattananat T., Akarawut W. *Validated HPLC method for the determination of fluconazole in human plasma. Biomedical Chromatography, 20 (1): 1–3, 2006.*
4. Charoo N., Cristofolletti R., Graham A., Lartey P., Abrahamsson B., Groot D. W., Kopp S., Langguth P., Polli J., Shah V.P., Dressman J., *Biowaiver Monograph for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms: Fluconazole, Journal of Pharmaceutical Sciences, 103: 3843–3858, 2014.*
5. Kasim N.A., Whitehouse M., Ramachandran C., Bermejo M., Lennerna H., Hussain A.S., Junginger H.E., Stavchansky S.A., MidhaK.K., Shah V.P., Amidon G.L. *Molecular Properties of WHO Essential Drugs and Provisional Biopharmaceutical Classification, Molecular Pharmaceutics, 1 (1): 85-96, 2004.*
6. Disposición ANMAT N° 6766/16.
7. *Fluconazole Tablets., USP 40-NF 35, The United States Pharmacopoeia—The National Formulary, The United States Pharmacopoeial Convention, Inc., 2017.*
8. *Farmacopea Nacional Argentina, 7^{ma} Edición, 2013.*
9. <1092> *The Dissolution Procedure: Development and Validation, USP 40-NF 35, The United States Pharmacopoeia—The National Formulary, The United States Pharmacopoeial Convention, Inc., 2017.*
10. *Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria- AEFI, Validación de Métodos Analíticos, 2001.*
11. *Quattrocchi O.A., Abelaira de Andrizzi S., Laba R.P. Introducción a la HPLC, aplicación y práctica, 1992.*

CICLOFOSFAMIDA INYECTABLE: PRIMERA INVESTIGACIÓN DEL PROGRAMA DE VIGILANCIA FARMACÉUTICA ACTIVA

INJECTABLE CYCLOPHOSPHAMIDE: FIRST INVESTIGATION OF THE ACTIVE PHARMACEUTICAL SURVEILLANCE PROGRAM

Verónica Llauro*, Estefanía Gerez*, Adriana Fernandez*, Alejandra Drucahoff, Lucrecia Guffanti, Marta Spinetto, Matias Gomez
Dirección de Fiscalización y Gestión de Riesgo, Instituto Nacional de Medicamentos, Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica
Contacto: vllauro@anmat.gov.ar

**Estos autores contribuyeron equitativamente al desarrollo de este trabajo.*

RESUMEN

El Programa de Vigilancia Farmacéutica Activa tiene como función evaluar la calidad de las especialidades medicinales que contienen ingredientes farmacéuticos activos con alta frecuencia de notificación en el Sistema Nacional de Farmacovigilancia y/o que tengan un impacto en la salud de la población. La ciclofosfamida es un citostático e inmunosupresor ampliamente utilizado en terapéutica. Se ha observado que el producto inyectable, al ser sometido a una temperatura de conservación mayor a la autorizada, puede tornarse amarillento, degradarse y en estas condiciones no debe ser administrado. Debido a esta problemática, este producto fue seleccionado como primer caso del estudio del Programa de Vigilancia Farmacéutica Activa. Se realizó un estudio integral de la ciclofosfamida en su presentación de polvo liofilizado inyectable 1000 mg, el cual incluyó la evaluación de documentación, datos relevados en las inspecciones, e identificación de puntos críticos donde se puede actuar para asegurar la calidad y reducir el riesgo en la salud de los pacientes. Los resultados obtenidos indicarían que el ajuste en la humidificación durante la elaboración, podría permitir obtener un producto terminado más estable y menos sensible a las variaciones de temperatura durante el transporte y almacenamiento.

Palabras clave: Ciclofosfamida, estabilidad, conservación, degradación, liofilización

ABSTRACT

The Active Pharmaceutical Surveillance Program function is to evaluate the quality of medicines that contain active pharmaceutical ingredients which are frequently notified in the National Pharmacovigilance System and/or that have a high impact on population health. Cyclophosphamide is a cytostatic and immunosuppressant widely used in therapy. When the injectable product is stored at a higher temperature than the one authorized, it was observed that it becomes yellowish, suffers degradation and then, under these conditions, it must not be given to anyone. Due to this issue, this

medicine was selected as the first case of study in the Active Pharmaceutical Surveillance Program. A comprehensive study of cyclophosphamide in its 1000 mg of injectable lyophilized powder presentation was carried out, which included manufacturer records evaluation, regulatory inspections data analysis, and identification of critical points where actions can be taken to ensure quality and reduce risk on patients health. The results would suggest that adjustment in the humidification process during the elaboration would allow to obtain a product with better stability and less sensitive to temperature variations during transport and storage.

Keywords: Cyclophosphamide, stability, conservation, degradation, lyophilization

1. INTRODUCCIÓN

El Programa de Vigilancia Farmacéutica Activa (PVFA) es un plan de fiscalización y control de la Dirección de Fiscalización y Gestión de Riesgo (DFyGR). Tiene como objetivo evaluar la calidad de las especialidades medicinales que contienen ingredientes farmacéuticos activos (IFAs) con alta frecuencia de notificación en el Sistema Nacional de Farmacovigilancia (SNFVG), de alta criticidad y/o que tengan un impacto en la salud de la población. Para ello, se realiza un abordaje multidisciplinario donde participan distintos departamentos del Laboratorio Nacional de Control de la DFyGR con el fin de articular estrategias de trabajo y realizar un análisis integral de los productos seleccionados. En el 2017, el programa se aplicó a productos que contienen ciclofosfamida en su presentación como polvo liofilizado inyectable 1000 mg.

La ciclofosfamida es un profármaco antineoplásico de acción alquilante, químicamente relacionado a las mostazas nitrogenadas. Tiene acción citostática e inmunosupresora eficaz. El principal uso de la ciclofosfamida junto a otros agentes quimioterapéuticos es para el tratamiento de enfermedades malignas como la enfermedad de Hodgkin, linfoma no

Hodgkin, mieloma múltiple, algunos tipos de leucemia como la leucemia linfocítica aguda y crónica, otros cánceres y tumores, así como también para tratar enfermedades auto-inmunes como el lupus eritematoso sistémico, granulomatosis de Wegener, artritis reumatoidea y síndrome nefrótico^[1-4]. Agencias regulatorias, farmacopeas internacionales y bibliografía reconocida^[5] recomiendan conservar la Ciclofosfamida inyectable a temperaturas por debajo de los 25°C. Durante el transporte y almacenamiento, variaciones de temperatura pueden llevar a la fusión de principio activo, observándose gotas en el vial o una película líquida y viscosa clara o amarilla, y en estas condiciones el producto no debe ser administrada al paciente^[6].

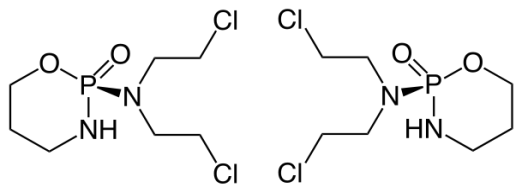


Figura 1: Estructura química de la Ciclofosfamida

Durante el año 2017, la DFyGR recibió distintas notificaciones a través del SNFVG por presuntos desvíos de calidad en ampollas de ciclofosfamida, las cuales presentaban polvo color amarillento, turbidez al reconstituir y dificultad para disolverse. En respuesta a estas irregularidades, se analizaron las muestras de archivo del laboratorio elaborador correspondientes a los lotes notificados, pero debido a que los resultados indicaron que las muestras cumplían con las especificaciones del producto, se estimó que los desvíos de calidad podrían ponerse de manifiesto durante el transporte, distribución y/o almacenamiento del producto. En concordancia con esto, se propuso como objetivo realizar un estudio integral en la cadena de elaboración y distribución, de manera de identificar los puntos críticos durante la elaboración y dispensa del producto ciclofosfamida inyectable. Conocer estos puntos claves permitirá planificar exigencias y controles necesarios para asegurar la calidad y reducir el riesgo en la salud de los pacientes.

2 - MATERIALES Y MÉTODOS

En primera instancia, se corroboraron los datos de todos los productos actualmente comercializados en nuestro país, conteniendo ciclofosfamida, inyectable, dosis de 1000 mg.

Luego se llevó a cabo una búsqueda bibliográfica de las metodologías de control del IFA y del producto terminado a nivel nacional e internacional^[7-13]. Se realizó un relevamiento de documentación de los productos comercializados en el mercado nacional (métodos de control de materia prima y producto terminado, método de elaboración, rótulo y prospecto, certificado de registro con sus atestaciones, estudios de estabilidad, proveedores de materias primas).

Se compararon ensayos y especificaciones de los métodos de control de materia prima y producto terminado entre lo codificado y los realizados por los laboratorios y/o proveedores.

Por otro lado, se llevaron a cabo inspecciones de verificación técnica a los 4 laboratorios que comercializan este producto, denominados con las letras A, B, C y D.

Se realizó el control de calidad evaluando el producto de acuerdo a los ensayos de aspecto del liofilizado, tiempo de reconstitución y aspecto del reconstituido, pH, humedad, identificación y valoración, sobre la muestra

ingresada por SNFVG y de las muestras de archivo de los lotes notificados por dicho Sistema. Además, en cada laboratorio se seleccionaron 3 lotes para analizar en base a diversos criterios:

- Protocolos de liberación de todos los productos terminados de ciclofosfamida inyectable 1000 mg: dentro de esta documentación se eligieron los de menor título en la liberación y porcentaje de humedad y los que presentaban elevados tiempos de reconstitución, en los casos en los que realizaban el ensayo e informaban numéricamente.
- Tabla con vencimiento de lotes. Se optó por lotes próximos a vencer, con vencimiento intermedio y con elaboración reciente.
- Proveedor de materia prima. Elección de lotes de elaborados con diferentes proveedores de materia prima.
- Observación del aspecto de los lotes seleccionados. Al menos 10 frascos de cada lote de archivo. Se separaron para análisis aquellos frascos que mostraron aspecto con agregados, húmedos, cambio de color, tacos adheridos al fondo o las paredes, entre otros.

Asimismo, se solicitó documentación para ser evaluada por distintos departamentos de la DFyGR: validación del proceso de elaboración, protocolos de liberación de todos los lotes vigentes, listado de distribuidoras/logísticas/droguerías involucradas en el proceso, reclamos, productos rechazados y sus investigaciones, métodos del ensayo de aptitud, control del agua, endotoxinas, hermeticidad, primera hoja del *batch* de los lotes analizados y temperatura de liofilización.

3- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Materia prima: Ciclofosfamida Monohidrato

La ciclofosfamida es un polvo cristalino blanco cuya conservación recomendada en todas las monografías de farmacopeas internacionalmente reconocidas, codificadas consultadas es entre 2 y 30°C. Por otro lado, presenta un rango de fusión de entre 49°-53°C, valores que en el producto terminado pueden ser menores debido a la presencia de manitol.

La ciclofosfamida monohidrato es estable y recomendada para los procesos de fabricación. Sin embargo, en condiciones de baja humedad relativa ambiental (20% o menos) puede perder agua de hidratación^[14].

Durante las inspecciones realizadas en los diferentes laboratorios que comercializan el producto terminado, se investigaron los 6 proveedores de materias primas utilizados y se compararon los ensayos, según se muestra en el **Gráfico 1**.

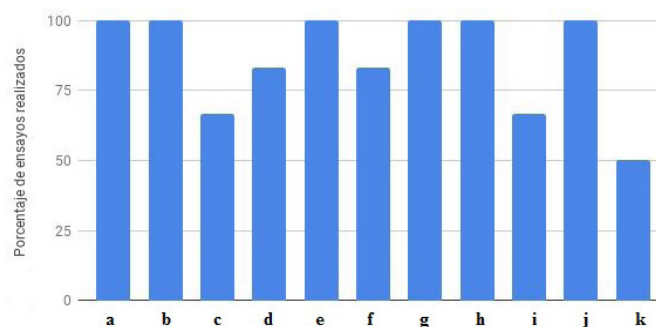


Gráfico 1. Comparación de ensayos realizados por los proveedores de materia prima. a: Identificación; b: Valoración; c: Límite de propanolamina; d: Productos de degradación; e: Límite de cloruros; f: Límite de fosfatos; g: pH; h: Agua; i: Rango de fusión; j: Metales pesados; k: Solventes residuales.

Todos los proveedores realizan los controles físico-químicos según farmacopeas vigentes, con algunas diferencias contempladas en las distintas monografías.

Si bien la materia prima es estable entre 2 y 30°C, sólo uno de los proveedores la comercializa refrigerada, mientras que el resto lo hace a temperatura ambiente.

Se revisaron los métodos de control de materia prima de los laboratorios y, si bien cumplen con lo codificado en alguna farmacopea, se halló que algunos no realizan la totalidad de los ensayos codificados en la Farmacopea de los Estados Unidos (USP), ni el ensayo de bioburden, por lo que se les solicitó a los laboratorios que completen sus métodos de control de acuerdo a la mencionada bibliografía e incorporen dicho ensayo.

Producto terminado: Ciclofosfamida para inyección

Agencias regulatorias, farmacopeas internacionales y bibliografía reconocida^[5] recomiendan conservar el producto terminado ciclofosfamida para inyectable a una temperatura que no exceda los 25°C, soportando una breve exposición a 30°C. Durante el transporte o almacenamiento, si se supera la temperatura recomendada, la ciclofosfamida se puede fundir/degradar observándose un líquido viscoso claro amarillento o una coloración amarillenta al reconstituir.

A temperaturas mayores a 30°C se produce la hidrólisis con liberación de cloruros, la disminución de la potencia y aparición de productos de degradación^[14].

Según los certificados ANMAT de aprobación de los productos, la conservación debe ser a menos de 25°C, por lo que durante las inspecciones a los laboratorios se controló la temperatura de los depósitos de muestras de archivo, encontrando que en todos los casos se respeta la normativa.

Aspecto del liofilizado

De un total de 32 muestras evaluadas, constituidas por 31 muestras de archivo y una muestra ingresada por el SNFVG, sólo ésta última presentó color amarillo y quedó fuera de la especificación de aspecto (polvo de color blanco). Seis muestras mostraron aglomerados en el polvo que impedían buena fluidez y once presentaron el polvo pegado en las paredes y en la base del frasco ampolla, el resto presentó un polvo cristalino de color blanco, con buena fluidez o como taco liofilizado color blanco (ver **Figura 2**).

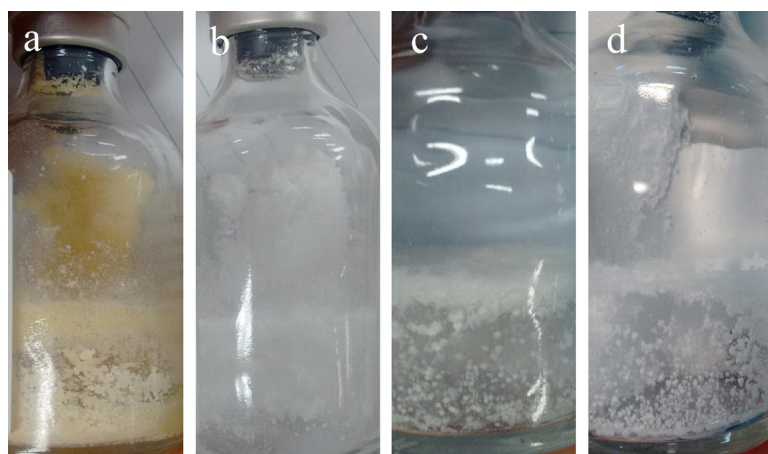


Figura 2: a - Polvo amarillo. b - Polvo cristalino de color blanco, con buena fluidez o como taco liofilizado color blanco. c / d - Polvo pegado en las paredes y en la base del frasco ampolla.

Tiempo de reconstitución, aspecto del reconstituido y pH

El tiempo de reconstitución permite establecer cuánto tarda el producto en ser reconstituido para su posterior administración. Debido a que no existen valores bibliográficos establecidos, el laboratorio es quien debe establecer una especificación como control. Este valor tiene que ser concordante con las indicaciones de uso que figuran en el prospecto.

Ésta determinación fue realizada sobre 14 muestras en el laboratorio B, y 6 muestras en cada uno de los restantes laboratorios. Tal como se observa en el **Gráfico 2**, entre las determinaciones de un mismo lote, correspondientes a los laboratorios B y D existe una gran variabilidad en el tiempo que tarda el liofilizado en disolverse. En el caso del laboratorio B hay registro de muestras que se disuelven entre 1 y 2 minutos, y otras en tiempos mayores de 5 minutos. En cuanto al laboratorio D, si bien los ensayos no se prolongaron más de 5 minutos, se observó una gran dispersión en los valores hallados. Mientras que en los laboratorios A y C, el tiempo de reconstitución no superó los 3 minutos y sus valores fueron más uniformes. Dada la importancia del ensayo y debido a las variaciones encontradas se les solicitó a los laboratorios que incorporen el ensayo en el estudio de estabilidad.

Una vez reconstituido el polvo inyectable, la solución se presentó límpida, incolora y sin partículas extrañas a simple vista en todos los casos.

Por otro lado, el pH de las soluciones obtenidas en los productos de los cuatro laboratorios estudiados se encontró dentro de los parámetros especificados por bibliografía (pH entre 3 y 9). Sin embargo, en el laboratorio B se observó que los valores de pH variaron en más de una unidad entre diferentes lotes, mientras que en el resto de los productos de los otros laboratorios no varió en más de una unidad, indicando una mayor homogeneidad lote a lote.

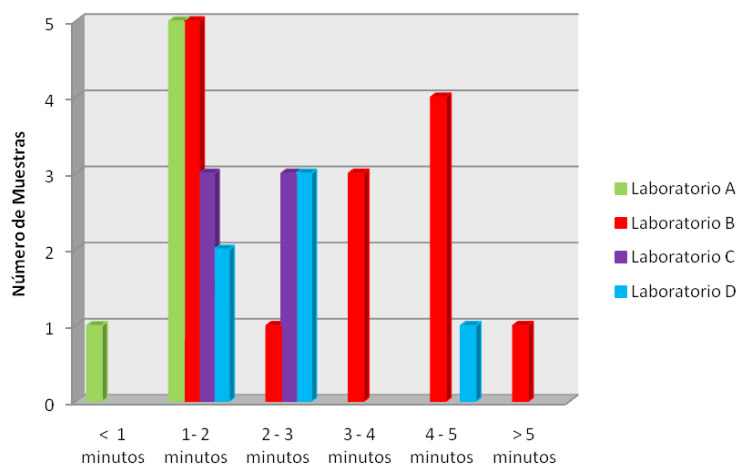


Gráfico 2. Tiempo de reconstitución del producto: ciclofosfamida polvo liofilizado de las muestras analizadas en los cuatro laboratorios.

Contenido de Humedad

El ensayo no se encuentra codificado para el producto terminado por ninguna de las farmacopeas consultadas, sin embargo, todos los laboratorios realizan el ensayo de humedad por Karl Fischer estableciendo una especificación propia.

De la evaluación de la documentación aportada por los laboratorios, se observa que, mientras la mayoría establece un rango para la especificación, sólo uno de los laboratorios estableció un límite superior.

En el **Gráfico 3** se muestran los resultados del ensayo para los tres lotes analizados de cada laboratorio. A pesar de que en todos los casos los valores obtenidos se encontraron dentro de la especificación establecida, se destaca que el contenido de humedad en las muestras del Laboratorio B es menor o igual a 4% en todos los lotes ensayados mientras que para el resto de los laboratorios es entre 4 y 6%. Además, se pudo observar una elevada dispersión en un mismo lote procedentes de los Laboratorios B y D.

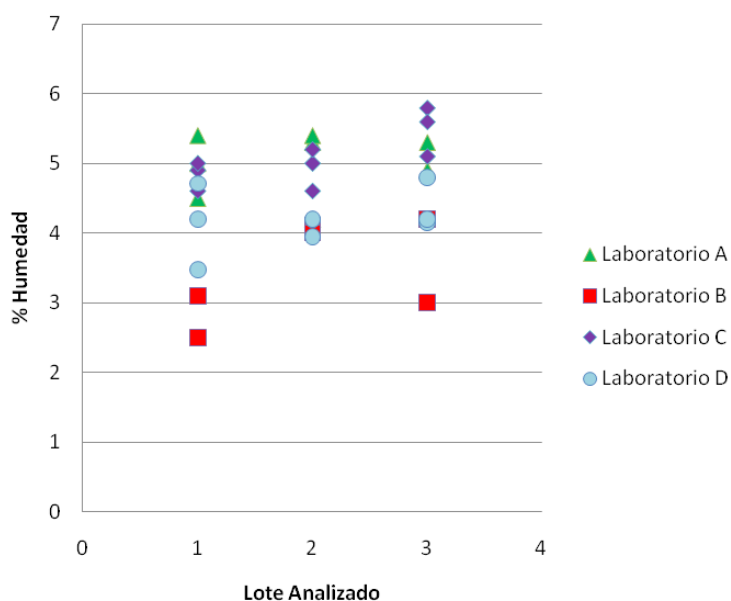


Gráfico 3: Porcentaje de humedad obtenido de los tres lotes analizados para cada laboratorio.

Debido a la falta de especificaciones para el ensayo de contenido de agua se realizó una comparación del ensayo en los diferentes laboratorios que comercializan el producto en Argentina (ver **Tabla 1**).

TABLA N°1: Comparación de criterios de humedad en cada laboratorio.

		Laboratorio B	Laboratorio C	Laboratorio D
Especificación del Contenido de agua por Karl Fischer	4-7%	≤6%	4-6%	4-6%
Contenido de agua al momento de la liberación	4,1 - 5,5%	1,7 - 5,2%	4,6 - 5,6%	4,2 - 5,3%
Humectación en la Elaboración	Agregado de placas de Petri con agua destilada estéril en cada bandeja	No se realiza	Agregado de un hidratador en el centro del equipo	Agregado de placas de Petri con agua destilada estéril

Las variaciones observadas tanto para un mismo lote como entre lotes se deben a la complejidad del proceso de liofilización, mediante la humidificación. Para mejorar esto, y obtener resultados confiables se deberá ajustar el proceso de elaboración, humidificando uniformemente y validar el proceso en cada punto a fin de asegurar una homogeneidad del lote y una reproducibilidad lote a lote dado que, de los encontrados, es uno de los puntos críticos más importantes.

Por otro lado, la USP se encuentra realizando modificaciones de la monografía de ciclofosfamida para incorporar en su edición 41. Dentro de las revisiones se encuentra la inclusión del ensayo de determinación de agua dada la importancia para la estabilidad del producto. El criterio de especificación propuesto es de no menos de 6,4% para la formulación liofilizada.

Ensayos de Identificación, Valoración y Sustancias Relacionadas

De la documentación se desprende que, tanto para el ensayo de identificación como para la valoración, todos los laboratorios realizan los controles según lo codificado en las farmacopeas vigentes.

Del análisis de los lotes de producto, los resultados obtenidos se encontraron dentro de especificación (90,0 - 110,0% del valor declarado), salvo para la muestra ingresada por el SNFVG, en la que el título se encontró por debajo de la especificación (74.6 %), presentando degradados.

El ensayo de sustancias relacionadas solo se encuentra codificado en la Farmacopea Británica mediante cromatografía en capa delgada TLC, y asimismo está siendo tratado en el foro de USP. En relación a ello, ha de mencionarse que ninguno de los laboratorios realiza este ensayo, por lo que se les solicitó su incorporación en el método de control.

Estudios de Estabilidad

En los estudios de estabilidad realizados por los laboratorios se observaron variaciones en el porcentaje de humedad y un decaimiento del título de alrededor de un 5% durante todo el periodo de vida útil del producto conservado a 25°C.

Respecto a la criticidad en la conservación, se observa que ninguno de los laboratorios ha realizado estudios de excursiones a 30°C para conocer el comportamiento del producto durante el transporte o en almacenamientos no controlados.

En los productos liofilizados de ciclofosfamida se suele utilizar manitol como excipiente primario dado que se obtiene un liofilizado superior comparado con otros excipientes. A su vez, varias publicaciones científicas demuestran que los liofilizados de ciclofosfamida que contienen cerca de un 4% de humedad dan un producto de mayor estabilidad térmica.

La inestabilidad de la ciclofosfamida puede ser evidenciada por cambios en las propiedades físico químicas como, por ejemplo, disminución de la velocidad de disolución, cambios en la apariencia (coloración amarillenta) y pérdida de la potencia durante el almacenamiento o transporte (principalmente a temperaturas mayores a los 25°C)^[6].

La composición sólida liofilizada de ciclofosfamida con manitol hidratada muestra una estabilidad mejorada, características de solubilidad superiores y una mejor apariencia en comparación con otras formulaciones.

Durante el proceso de liofilización se obtiene un producto de muy baja humedad residual, por lo tanto, el producto se debe humidificar para obtener una formulación estable.

En cuanto a los estudios de estabilidad, se solicitó a todos los laboratorios que incorporen los ensayos de sustancias relacionadas y tiempo de reconstitución dada la importancia de los mismos, así como también la realización de estudios de excursiones a 30°C.

Validación de proceso de Elaboración

La validación se debe realizar para demostrar que usando los materiales y equipos especificados se obtiene consistentemente un producto de la calidad requerida.

Teniendo en cuenta que la validación de un proceso productivo abarca desde la elección de la calidad de los materiales hasta la obtención del producto terminado, o sea en su estuche de venta, nos enfocamos principalmente en la etapa de liofilización por ser la más compleja.

En el caso de la ciclofosfamida, la forma farmacéutica liofilizada se utiliza con el fin de obtener un producto con mayor velocidad de disolución que la forma farmacéutica polvo estéril. De la evaluación de la información presentada por las 4 empresas, se observó que 3 de ellas aportaron documentación de validaciones finalizadas, mientras que una de ellas se encuentra con validación programada. Los datos corresponden a validaciones concurrentes sobre 3 lotes consecutivos.

Si bien los protocolos de validación presentados fueron definidos utilizando herramientas de análisis de riesgo, según indica la norma de Buenas Prácticas de Fabricación⁽¹⁵⁾, los resultados obtenidos en primera instancia no son concluyentes y requieren de un estudio más exhaustivo.

4- CONCLUSIONES

Se ha logrado relevar aspectos claves del ciclo de vida de los productos de ciclofosfamida inyectable e identificar los puntos críticos en su elaboración, control, almacenamiento y estabilidad.

A partir de lo evaluado y analizado en las inspecciones realizadas y en la documentación aportada y, teniendo en cuenta lo recomendado en bibliografía internacional, se cree que acotando los valores de humedad y controlando la humidificación durante la elaboración, se puede obtener un producto más estable, menos sensible a las variaciones de temperatura y por ende ser una alternativa viable de incorporar. De esta manera, se buscará resolver el problema de las alteraciones que se producen en el producto al someterse a temperaturas superiores a los 25°C, evitando la posible degradación del IFA.

La DFYGR realizará un seguimiento de los puntos críticos hallados, como liofilización, validación del proceso, tiempo de reconstitución, ensayo microbiológico de la materia prima, humedad y estabilidad con el fin de asegurar que el producto llegue en óptimas condiciones a la población.

5- BIBLIOGRAFÍA

1. Chabner B. Principios generales de las enfermedades neoplásicas. En: Goodman & Gilman. Brunton L et al, editores. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 12ª ed. México: McGraw Hill; 2012. p. 1668.
2. Chabner B, Bertino J, Cleary J, Ortiz T, Lane A, Supko J, Ryan D. Fármacos citotóxicos. En: Goodman & Gilman. Brunton L et al, editores. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 12ª ed. México: McGraw Hill; 2012. p. 1683
3. Burkhart C, Morrell D. Farmacología dermatológica. En: Goodman & Gilman. Brunton L et al, editores. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 12ª ed. México: McGraw-Hill; 2012. p. 1820-1821.

4. Sweetman S, editor. *Martindale The complete drug reference*. Vol 1. 36ta ed. London SEI 7JN, UK. Pharmaceutical Press 2009. p. 702-704.
5. Trissel L, editor. *Handbook on Injectable Drugs*. 8va ed. 7272 Wisconsin Avenue, Bethesda, MD 20814. U.S. American Society of Hospital Pharmacists. 1994. p. 287-288.
6. FDA. 2013. *Highlights of prescribing information*. Food and drug administration, US, consultado el 22 de mayo de 2017.
7. USP. 2017. *In-Process Revision: Cyclophosphamide for Injection*. Pharmacopeial Forum: Volume No. 43(1), consultado el 16 de mayo de 2017.
8. USP 40. 2017. *Monograph: Cyclophosphamide for Injection*. The United States Pharmacopeial Convention, US, consultado el 16 de mayo de 2017.
9. USP 40. 2017. *Monograph: Cyclophosphamide*. The United States Pharmacopeial Convention, US, consultado el 16 de mayo de 2017.
10. Ph. Eur. 9th Edition 9.0. 2017. *Monograph: Cyclophosphamide*. European Pharmacopoeia, consultado el 16 de mayo de 2017.
11. Ph. Int. 6th Edition. 2016. *Monograph: Cyclophosphamide (Cyclophosphamidum)*. The International Pharmacopoeia, consultado el 16 de mayo de 2017.
12. Gerald Z., Susan Marie L., William E. *High-Resolution Nuclear Magnetic Resonance Investigations of the Chemical Stability of Cyclophosphamide and Related Phosphoramidic Compounds*. JACS. (Internet). 1977. (consultado el 15 mayo de 2017); 99(17):5785-5795. Disponible en: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja00459a041>
13. FA. 7ª Edición. 2013. *Monografía: Ciclofosfamida*. Farmacopea Argentina, Arg., consultada el 16 de mayo de 2017.
14. Alexander et al. United States Patent. *Lyophilized cyclophosphamide*. Patent US 541399 fecha de la patente 9 mayo de 1995. Consultado el 22 de mayo de 2017.
15. ANMAT. 2004. *Apruébanse los lineamientos generales de Buenas Prácticas de Fabricación para Elaboradores, Importadores/Exportadores de Medicamentos*. Disposición ANMAT N° 2819/2004.

VERIFICACIÓN INTRALABORATORIO DE LA NORMA ISO 6579: MÉTODO HORIZONTAL PARA LA DETECCIÓN DE SALMONELLA SPP. EN FÓRMULA EN POLVO PARA LACTANTES

INTRALABORATORY VERIFICATION OF ISO 6579 STANDARD: HORIZONTAL METHOD FOR THE DETECTION OF SALMONELLA SPP. IN POWDERED INFANT FORMULA

Mariela A. Freschi, María J. Cabrera Durango, Silvana Ruarte, Adriana Garbini, Natalia Jakubowski.

Departamento de Control y Desarrollo. Dirección de Fiscalización, Vigilancia y Gestión de Riesgo.

Instituto Nacional de Alimentos, Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica.

Contacto: microinal@gmail.com

RESUMEN

Las fórmulas en polvo para lactantes no son productos estériles, pudiendo contener microorganismos patógenos capaces de producir enfermedad severa en lactantes. La introducción de estos contaminantes puede ocurrir no sólo durante la fabricación del producto, sino también en su manipulación o almacenamiento^[1]. El Código Alimentario Argentino, en su artículo 1340^[2], incisos E. A1 y E. A2, establece los criterios microbiológicos aplicables a productos para lactantes que han de consumirse después de añadir un líquido para la población de 0 a 6 meses y para la población de 6 a 12 meses, en los cuales el método de referencia para la determinación de *Salmonella* spp. es la norma ISO 6579^[3]. Al tratarse de una norma validada es importante disponer de protocolos que verifiquen su adecuada aplicación, garantizando así resultados confiables para el control de inocuidad de estos productos. Dichos protocolos pueden ser útiles para orientar a otros laboratorios en la verificación de la implementación del método en cuestión o para desarrollar un protocolo de verificación de otras normas ya validadas. En consideración de lo anterior, se desarrolló un estudio analítico de tipo experimental que permitió constatar, mediante el cálculo del límite de detección, la sensibilidad y la especificidad, que la metodología aplicada en el Laboratorio de Microbiología del Instituto Nacional de Alimentos cumple con los parámetros de rendimiento de la norma ISO 6579^[3] (Método horizontal para la detección de *Salmonella* spp.) para la matriz fórmula en polvo para lactantes, brindando por lo tanto resultados confiables y comparables.

Palabras claves: verificación, *Salmonella* spp., ISO 6579, fórmula en polvo para lactantes, límite de detección, sensibilidad, especificidad.

ABSTRACT

Powdered infant formula is not a sterile product; it may contain pathogenic microorganisms capable of producing diseases in infants. The introduction

of these contaminants can occur not only during the product manufacture, but also in its handling or storage. The Argentine Food Code, in its article 1340 (subsections E.1 and E.2), establishes the microbiological criteria applicable to products for infants that are consumed after adding a liquid, for the population from 0 to 6 months and for the population of 6 to 12 months, in which the reference method for the determination of *Salmonella* spp. is the Standard ISO 6579. In the case of a validated standard it is important to have protocols to verify its proper application, ensuring reliable results for the control of safety of these products. These protocols may be useful to provide guidance to other laboratories in the verification of the implementation of the method in question or to develop a verification protocol to other standards already validated. In consideration of the above, an analytical study of experimental type was developed to verify, through the calculation of the detection limit, the sensitivity and the specificity, that the methodology applied in the Microbiology Laboratory of the National Institute of Food complies with the performance parameters of the ISO 6579 (horizontal method for the detection of *Salmonella* spp.) for powdered infant formula, providing reliable and comparable results.

Keywords: verification, *Salmonella* spp., ISO 6579, powdered infant formula, detection limit, sensitivity, specificity.

INTRODUCCIÓN

El consumo de alimentos en polvo para lactantes contaminados con *Cronobacter* spp. y *Salmonella* entérica se ha asociado con casos de enfermedad grave y muerte, según grupos de trabajo de expertos de FAO/OMS (OMS, 2004 y 2006). Desde 1995 se han descrito al menos seis brotes de salmonelosis asociados a estos alimentos ocurridos en Canadá, Francia, Corea, España, el Reino Unido y los Estados Unidos (FAO/OMS, 2006; CDC, 2002)^[1]. En España, durante el año 2010, se detectó un aumento de casos de *Salmonella* serotipo Poona, fundamentalmente en menores de un año, asociados al consumo de leches maternizadas^[4]. Aunque se

desconoce cuál es la dosis infectiva para lactantes, la información obtenida en la investigación de los brotes indica que algunos serotipos de *Salmonella* tienen el potencial de provocar enfermedad a dosis muy bajas^[1].

El empleo de métodos de referencia validados es la herramienta más eficaz para obtener resultados confiables y comparables. El objetivo de la validación y de la verificación es demostrar que el método utilizado por un laboratorio es adecuado para su uso previsto; para el caso de un método microbiológico, adecuado para detectar o cuantificar un microorganismo o grupo de microorganismos específicos. El término verificación se utiliza para indicar el proceso que lleva a cabo el laboratorio con el fin de demostrar su capacidad para ejecutar correctamente un método ya normalizado, es decir, previamente validado^[5]. En una verificación se determinan ciertos parámetros cuyos resultados se comparan con los resultados obtenidos en la validación del método evaluado^[6].

La Norma ISO 6579 constituye un método analítico de tipo cualitativo, dado que la respuesta del análisis será la presencia o ausencia del microorganismo, detectado de forma directa o indirecta, en una cierta cantidad de muestra.

De acuerdo al Organismo Argentino de Acreditación^[6], encargado de realizar comprobaciones de competencia de las entidades con el objetivo de dar confianza a los consumidores, dentro de los ensayos cualitativos para métodos normalizados, los parámetros de verificación a determinar son:

Límite de detección: número mínimo de microorganismos que pueden ser detectados, pero en cantidades que no pueden estimarse con precisión.

Sensibilidad (para un tipo de matriz y un nivel de inoculación dado): fracción del número total de cultivos o colonias positivos que son correctamente asignados con el método utilizado. También puede definirse como la capacidad de un método de detectar el microorganismo diana, cuando éste está presente.

Especificidad (para un tipo de matriz y nivel de inoculación dado): fracción del número total de cultivos o colonias negativos que son asignados correctamente con el método utilizado. También puede definirse como la capacidad de un método de no detectar el microorganismo diana, si éste no está presente.

El objetivo del presente trabajo consistió en verificar la correcta implementación de la norma ISO 6579 (Método horizontal para la detección de *Salmonella* spp.) en el Laboratorio de Microbiología del Instituto Nacional de Alimentos (INAL), utilizando fórmula en polvo para lactantes como matriz. Se desarrolló y se llevó a cabo un protocolo para determinar los parámetros adecuados para esta verificación intralaboratorio.

Características de las muestras microbiológicas

La presencia de microorganismos de la flora acompañante en la muestra de alimento puede incidir en la detección y/o recuento del microorganismo diana debido a la competencia por los nutrientes, enmascaramiento del crecimiento, un comportamiento similar para la prueba efectuada o la liberación de compuestos que inhiben el crecimiento del microorganismo de interés^[7]. Por ello, en la presente verificación, se inocularon las muestras con microorganismos de competencia para evaluar sensibilidad y especificidad. La falta de uniformidad de las muestras microbiológicas, debido a que contienen un número pequeño de microorganismos, implica una distribución heterogénea de las partículas entre muestras paralelas

incluso en suspensiones perfectamente mezcladas. Por este motivo, los recuentos microbiológicos son variables aleatorias discretas que no siguen una distribución normal o Gaussiana, y en consecuencia ha de considerarse la probabilidad de no detectar partículas en estos casos^[7].

MATERIALES Y MÉTODOS

Método analítico aplicado

INTERNATIONAL STANDARD. ISO 6579:2002. *Microbiology of food and animal feeding stuffs* – Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. Este método tiene como objetivo la detección de *Salmonella* spp. en alimentos y piensos, y consta de las siguientes etapas:

- 1- Pre-enriquecimiento en medio líquido no selectivo, utilizando agua peptonada *bufferada*.
- 2- Enriquecimiento en medio líquido selectivo, en caldo Rappaport-Vassiliadis con soja (RVS) y caldo Muller-Kauffmann tetratratonovobiocina (MKTTn).
- 3- Identificación en dos medios sólidos selectivos. El especificado por la norma es xilosa-lisina-desoxicolato (XLD) y el uso de un segundo medio es opcional (en esta verificación se utilizó Agar Hektoen^[8]).
- 4- Confirmación por medio de pruebas bioquímicas y serológicas.

Definición del analito

Se utilizó como inóculo el serotipo *Salmonella* Enteritidis, dado que es uno de los notificados con mayor frecuencia como patógeno de transmisión alimentaria en el ser humano. La cepa de trabajo empleada fue *Salmonella enterica* subespecie entérica serovar Enteritidis ATCC® 13076™.

Naturaleza de las muestras (matriz)

Se emplearon muestras de fórmula en polvo para lactantes con ausencia de *Salmonella* spp. (análisis previo según ISO 6579), ausencia de *Cronobacter* spp. (ISO 22964) y ausencia de *Enterobacteriaceae* (ISO 21528-1), correspondientes a un mismo producto y lote.

Acondicionamiento y preparación de las muestras

Las muestras a utilizar fueron almacenadas a temperatura ambiente. Al momento de iniciar el ensayo, se pesaron 25 g de cada una en cabina de flujo laminar utilizando bolsas descartables estériles, de acuerdo con el criterio microbiológico establecido en el Art. 1340 del C.A.A.

Microorganismos utilizados

Analito: cepa *Salmonella enterica* v. Enteritidis ATCC® 13076™.

Contaminante utilizado en determinación de sensibilidad y especificidad: cepa *Escherichia coli* ATCC® 25922™.

Preparación del inóculo

La verificación de la técnica, de acuerdo a ISO 6579 en muestras inoculadas con *Salmonella* Enteritidis, o *Escherichia coli*, según el parámetro a analizar, requirió desarrollar un protocolo de preparación del inóculo para cuantificar la concentración de microorganismos utilizada (unidades formadoras de colonia o UFC/ml) en la determinación del límite de detección, sensibilidad y especificidad.

Se sembró *Salmonella* Enteritidis a partir de la cepa de reserva del laboratorio en placa con agar nutritivo (composición según ISO 6579) por agotamiento

en superficie. Se incubó en estufa a 35°C ± 1°C durante 24 horas.

Se seleccionaron colonias obtenidas de dicha placa y se realizó una suspensión bacteriana en 10 ml de solución fisiológica con una turbidez correspondiente al patrón 0,5 de la escala de Mc Farland, equivalente a una suspensión bacteriana de 1,5x10⁸ UFC/ml.

A partir de 1 ml de dicha suspensión se realizaron 8 diluciones decimales sucesivas (tomando 1 ml y re-suspendiendo en tubos de 9 ml de solución fisiológica) obteniendo tubos de concentración teórica en el siguiente orden: 10⁷, 10⁶, 10⁵, 10⁴, 10³, 10², 10¹, 10⁰. Con ello se esperó obtener una suspensión cuya concentración fuera de 1 a 5 UFC/ml^[7,9] para inocular las muestras. Dicho valor corresponde al número mínimo que se espera que la técnica detecte, es decir nuestro límite de detección esperado basado en la bibliografía y en los resultados de estudios interlaboratorios especificados en el ANEXO C de la norma ISO 6579.

Se siguió la misma metodología de preparación del inóculo a partir de cepa de reserva de *Escherichia coli* para la determinación de sensibilidad y especificidad, empleando 0,1 ml de la dilución 10³ como inóculo, esperando obtener una suspensión de 100 UFC en el volumen empleado.

Para obtener las concentraciones bacterianas reales de los inóculos, se realizó el recuento en placas de PCA (*Plate Count Agar*) mediante siembra en profundidad por duplicado. Se incubaron las placas 72 h ± 3 h a 30 °C ± 1 °C. Se realizó el recuento de colonias y se calculó el promedio para cada dilución^[10], obteniéndose de esta manera las concentraciones reales (UFC/ml) de *Salmonella* Enteritidis y de *Escherichia coli* de las suspensiones utilizadas para inocular las muestras y, por ende, las concentraciones de *Salmonella* Enteritidis y de *Escherichia coli* presentes en 25 g de muestra (UFC/25 g).

Determinación del límite de detección

Se consideró como “límite de detección esperado” al número mínimo de microorganismos que pueden ser detectados en la porción analítica (25 g) y cuya probabilidad de obtener un resultado positivo fuera del 90%.

El límite de detección que se esperó obtener fue de 1 a 5 UFC^[7,9]/25 g de matriz (fórmula en polvo para lactantes), analizando muestras inoculadas con suspensiones de *Salmonella* Enteritidis cuyas concentraciones correspondieron a 10², 10¹ y 10⁰ UFC/ml.

Los análisis para la determinación del límite de detección por ISO 6579 y del recuento bacteriano real fueron iniciados el mismo día, por un mismo analista, utilizando los mismos equipos, lotes de muestra, medios de cultivo, reactivos y demás insumos.

Se pesaron un total de 16 muestras de 25 g cada una. Se inoculó con suspensiones de *Salmonella* Enteritidis: 5 muestras con 1 ml de la suspensión de concentración teórica 10⁰ UFC/ml, 5 muestras con 1 ml de la suspensión de concentración teórica 10¹ UFC/ml y 5 muestras con 1 ml de la suspensión de concentración teórica 10² UFC/ml. Se dejó una muestra sin contaminar como control negativo. Se analizaron las muestras según la técnica ISO 6579:2002.

Determinación de sensibilidad y especificidad

Sensibilidad: Para estudiar este parámetro se repitió, bajo las mismas condiciones, la preparación del inóculo y el procedimiento de inoculación indicado para la determinación del límite de detección. En este caso, cada una de las muestras fue contaminada además con 0,1 ml de una suspensión 10³ UFC/ml de *Escherichia coli*. A continuación, se procesaron las muestras según la norma ISO 6579:2002.

Especificidad: Se inocularon 5 muestras de 25 g de matriz con 0,1 ml de una suspensión de 10³ UFC/ml de *Escherichia coli*. A diferencia de los anteriores procedimientos, estas muestras no se inocularon con *Salmonella* Enteritidis. Luego se procesaron las muestras según la norma ISO 6579:2002. Se procesó además un control negativo de muestra sin contaminar.

Los análisis para la determinación de sensibilidad y especificidad fueron iniciados el mismo día, por el mismo analista, utilizando los mismos equipos y lotes de muestra, medios de cultivo, reactivos y demás insumos. En simultáneo a ambas determinaciones se realizó un control de medios de cultivo.

Las concentraciones de los inóculos utilizados y el número de muestras analizadas en el presente protocolo de verificación se basaron en la prueba experimental interlaboratorio citada en la Norma ISO 6579:2002 ANEXO C, donde figuran los resultados de un estudio interlaboratorio organizado en el año 2000 por la Agencia Francesa de Seguridad Sanitaria de los Alimentos (AFSSA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Determinación del límite de detección

El límite de detección obtenido en la presente verificación fue de 2 UFC/25 g de muestra con un 100% de probabilidad de detección (Tabla 1). Este valor cumple con el criterio de aceptación.

Tabla 1: Determinación de límite de detección.

Inóculo de <i>Salmonella</i> Enteritidis (UFC/ 25 g)	Nº de muestras inoculadas y analizadas según ISO 6579	ISO 6579 Nº de presencias	ISO 6579 Nº de ausencias	Probabilidad de detección
1,8 x 10 ²	5	5	0	100%
19	5	5	0	100%
2	5	5	0	100%
Control negativo	1	0	1	-

Cabe destacar que se aislaron colonias típicas en los dos medios selectivos diferenciales utilizados, agar XLD y agar Hektoen, tanto en las placas sembradas a partir de caldo RVS como a partir de caldo MKTTn. Las colonias típicas aisladas fueron confirmadas por pruebas bioquímicas y serología, como indica la norma ISO 6579.

Determinación de sensibilidad y especificidad

Como se muestra en la Tabla 2, para las muestras inoculadas con 1 UFC se obtuvo una sensibilidad del 60% y para las muestras inoculadas con 15 UFC se obtuvo una sensibilidad del 100%. El resultado de especificidad fue de 100%.

Tabla 2: Determinación de sensibilidad Y especificidad.

Microorganismo	Inóculo (UFC/25 g)	Nº de muestras inoculadas con <i>Salmonella</i> spp.	ISO 6579 Sensibilidad (%)	ISO 6579 Especificidad (%)
<i>E. coli</i>	1 x 10 ²	--	--	100
<i>Salmonella</i> Enteritidis	15	5	100	--
	1	5	60	--

En el interlaboratorio organizado en el año 2000 por AFSSA, se utilizó un material de referencia de 5 UFC y se obtuvo un valor de sensibilidad del 94,4%. Por lo tanto, para comparar con dichos resultados deberíamos trabajar en la verificación intralaboratorio con un nivel de inoculación de 5 UFC/muestra. La especificidad en diferentes muestras blanco en dicho interlaboratorio fue de 100%.

A modo complementario, los cálculos de eficiencia (E, aciertos respecto de los casos totales) mostraron porcentajes elevados, según la ecuación $E = (VP+VN)/n$, siendo VP verdaderos positivos y VN verdaderos negativos^[7].

- Para nivel de inoculación de 1 UFC de *Salmonella* Enteritidis E=80%
- Para nivel de inoculación de 15 UFC de *Salmonella* Enteritidis E=100%

CONCLUSIÓN

De acuerdo a los valores de los parámetros obtenidos en la presente verificación se demuestra la capacidad del Laboratorio de Microbiología del Instituto Nacional de Alimentos para ejecutar correctamente el método para la detección de *Salmonella* spp. en fórmula en polvo para lactantes en condiciones habituales de trabajo.

Por otra parte, es importante remarcar la utilidad del protocolo desarrollado para determinar estos parámetros en otras matrices y también para evaluar la implementación de otras metodologías para la determinación cualitativa de diferentes microorganismos de interés en la salud pública.

BIBLIOGRAFÍA

1. Organización Mundial de la Salud. 2007. *Preparación, Almacenamiento Y Manipulación En Condiciones Higiénicas De Preparaciones En Polvo Para Lactantes: Directrices*. http://www.who.int/foodsafety/publications/micro/pif_guidelines_sp.pdf (consultado el día 25 de Enero de 2016).
2. Código Alimentario Argentino. http://www.anmat.gov.ar/alimentos/normativas_alimentos_caa.asp (consultado el día 1 de Abril de 2016).
3. International Standard Organization, ISO 6579:2002, *Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of Salmonella spp.*
4. Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica: Instituto de Salud Carlos III (Centro Nacional de Epidemiología y Centro Nacional de Microbiología) y Comunidades Autónomas implicadas, *Brote supracomunitario de gastroenteritis por Salmonella Poona en 2010-2011*, Boletín Epidemiológico Semanal Vol. 9, N°13. 2011.
5. Instituto de Salud Pública de Chile. 2010. *Guía Técnica 1: Validación de Métodos y determinación de la incertidumbre de la medición*.

6. Organismo Argentino de Acreditación. 2013. *Guía para la validación de métodos microbiológicos*. <http://www.oaa.org.ar/docs/GUI-LE-05%20v1.pdf> (consultado el día 25 de Enero de 2016).

7. Laso Sánchez, J. 2005. *Situación De La Validación De Los Ensayos Microbiológicos En Los Laboratorios*, Tercer Congreso Virtual Iberoamericano sobre Gestión de Calidad en Laboratorios.

8. BAM_FDA(BacteriologicalAnalytical Manual), Capítulo 5, *Salmonella*. 2007 (versión Mayo 2014).<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070149.htm> (consultado el día 1 de Abril de 2016).

9. Sánchez Canedo, S. 2012. *Validación de un método de detección de Salmonella en huevos y pollo*.http://ruc.udc.es/dspace/bitstream/handle/2183/9967/SanchezCanedo_Sonia_TFM_2012.pdf?sequence=2(consultado el día 25 de Enero de 2016).

10. International Standard Organization, ISO 4833-1:2013, *Microbiology of food chain – Horizontal method for the enumeration of microorganisms. Part 1: Colony count at 30°C by the pour plate technique*.

VACUNA DE HEPATITIS B: PRODUCTOS REGISTRADOS EN ARGENTINA Y MÉTODOS GENERALES DE VALORACIÓN DE POTENCIA

HEPATITIS B VACCINE: REGISTERED PRODUCTS IN ARGENTINA AND GENERAL METHODS FOR POTENCY ASSESSMENT

María Herminia Mogetta, Paola Cassano, Patricia Aprea.

Dirección de Evaluación y Control de Biológicos y Radiofármacos, Instituto Nacional de Medicamentos, Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica.

Contacto: herminiamogetta@hotmail.com

RESUMEN

La infección de hepatitis B, causada por el virus de nombre homónimo, es una de las infecciones virales más graves. Este virus infecta a más de 500 millones de personas en el mundo siendo la causa más frecuente de hepatitis crónica, cirrosis y carcinoma hepatocelular. A pesar de los esfuerzos orientados al desarrollo de terapias eficientes, actualmente no existe un tratamiento específico para esta enfermedad, por lo que constituye un problema de salud a nivel mundial. Por este motivo, la Dirección de Evaluación y Control de Biológicos y Radiofármacos realizó una revisión bibliográfica acerca de los productos comercializados de la vacuna en nuestro país y los ensayos de control de calidad.

Palabras claves: Virus de Hepatitis B, Registro de Vacunas, Antígeno HBsAg

ABSTRACT

Hepatitis B infection, caused by its namesake virus, is one of the most serious viral infections. This virus affects more than 500 million people in the world which is the most frequent cause of chronic hepatitis, cirrhosis and hepatocellular carcinoma. Despite efforts aimed at the development of efficient therapies, there is currently no specific treatment for this disease, which is an important global health problem. For this reason, the Directorate of Evaluation and Control of Biologics and Radiopharmaceuticals carried out a literature review about commercialized hepatitis B vaccines in our country and its quality control assays.

Keywords: Hepatitis B virus, Vaccine Registry, HBsAg Antigen

INTRODUCCIÓN

La infección de hepatitis B, causada por el virus de nombre homónimo, es una de las infecciones virales más graves. El virus se replica en el hepatocito provocando un mal funcionamiento del hígado y causando daños por la respuesta inmune que genera. A pesar de los esfuerzos orientados al desarrollo de terapias eficientes, actualmente no existe un tratamiento específico para esta enfermedad, por lo que constituye un problema de salud a nivel mundial^[1].

En nuestro país, la vacunación contra la hepatitis B fue incorporada al Calendario Nacional de Vacunación en el año 2000 por la Resolución 940/00, para su indicación en recién nacidos y lactantes; más tarde, en el marco del Programa de Salud Escolar, a partir del año 2003 y por resolución N° 175/03 también se vacunan los niños de 11 años no inmunizados previamente. Y durante la última actualización del calendario, en el año 2012, se implementó la vacunación universal dirigida a adultos mayores de 20 años.

A nivel internacional, la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda su implementación en los calendarios de vacunación y gracias a ello, en los países en los que se ha realizado, se logró reducir notablemente la incidencia de la enfermedad en la población. Por lo tanto, la disponibilidad de la vacuna resulta fundamental para el control de estos cuadros clínicos.

Vacunas para la hepatitis B registradas en Argentina

Actualmente en Argentina existen 5 laboratorios que comercializan vacunas para la hepatitis B y, en su totalidad, son producidas en el exterior. Sólo un laboratorio farmacéutico local produce el antígeno de superficie viral de hepatitis B en el país y exporta la totalidad del mismo para la fabricación de vacunas que luego son comercializadas internacionalmente.

Respecto a la presentación del producto, tres laboratorios comercializan fórmulas monocomponente, es decir que en su composición sólo tienen el antígeno de la hepatitis B (Tabla 1).

TABLA 1: Vacunas recombinantes contra Hepatitis B monocomponente registradas en argentina a mayo 2016

Nombre del producto	Laboratorio	Composición	Vía de administración/ Presentación	País de elaboración
ENGERIX B	Glaxo Smith Kline Argentina S.A.	Antígeno HBsAg	Inyectable 20 µg /dosis	Bélgica
ENGERIX B pediátrico	Glaxo Smith kline Argentina S.A.	Antígeno HBsAg	Inyectable 10 µg /dosis	Bélgica
HB VAXPRO	Merck sharp&Dohme Argentina Inc	Antígeno HBsAg	Suspensión Inyectable (5,10 y 40µg / dosis)	Estados Unidos

En otros casos se comercializan vacunas que contienen el antígeno de la hepatitis B, en combinación con antígenos para la prevención de otras enfermedades (Tabla 2). De ellas, existen tres presentaciones distintas con preparados pentavalentes o hexavalentes (vacunas para la prevención de distintas enfermedades, incluidas en calendarios de vacunación) y una presentación como preparado bivalente para la prevención de la hepatitis A y B.

Como se observa, las concentraciones del antígeno de superficie viral (HBsAg) de las distintas presentaciones de vacunas de hepatitis B varían entre 5, 10, 20 y 40 µg por dosis. En general, las formulaciones de estos productos contienen fosfato, hidróxido o hidroxifosfato de aluminio como adyuvante y en particular, sólo uno de ellos contiene tiomersal como conservante. En relación a este último compuesto, existe cierta controversia debido a su capacidad de interactuar sinérgicamente con el aluminio para producir autoinmunidad en individuos susceptibles.

TABLA 2: Vacunas recombinantes contra Hepatitis B combinadas registradas en Argentina a mayo 2016.

Nombre del producto	Laboratorio	Composición	Vía de administración/ Presentación	País de elaboración
INFANRIX Hexa	GlaxoSmithkline Argentina S.A.	* Toxoide Diftérico * Toxoide Tetánico * Toxoide Pertusis * Hemaglutinina Filamentosa / Pertactina * Antígeno HBsAg * Poliovirus Inactivado * Polisac de <i>Haemophilus Influenzae</i> tipo b	Polvo liofilizado para inyectable / Suspensión para reconstituir en una suspensión inyectable en jeringa precargada 10mcg de AgHB/dosis	Bélgica
TWINRIX ADULTOS	GlaxoSmithkline Argentina S.A	* Antígeno del virus de Hepatitis A * Antígeno HBsAg	Suspensión inyectable 20mcg de AgHB/dosis	Bélgica
TWINRIX PEDIATRICO	GlaxoSmithkline Argentina S.A	* Antígeno del virus de Hepatitis A * Antígeno HBsAg	Suspensión inyectable	Bélgica
HEXAXIM	Sanofi Pasteur SA	*Toxoide Diftérico * Toxoide Tetánico * Toxoide Pertusi * Hemaglutinina Filamentosa * Poliovirus tipo 1, tipo 2 y tipo 3 *Antígeno HBsAg * Polisacárido de <i>Haemophilus Influenzae</i> tipo b	Suspensión inyectable 10mcg/ dosis de AgHB	Francia
HEBERPENTAL	Compañía Argentina de Investigaciones Farmacéuticas	* Anatoxina Diftérica * Anatoxina Tetánica * Células enteras o inactivadas de <i>B. Pertussis</i> * Proteínas Antigenicas de Superficie de Hepatitis B * Conjugado de poliribosilribitol fosfato sintético de <i>H. Influenzae</i> tipo b	Suspensión Inyectable 10mcg/dosis AgHB	Cuba

Métodos de elaboración

La revisión de la documentación de registro de los productos en nuestro país permite confirmar que todas las vacunas que se encuentran en el mercado son obtenidas por tecnología de ADN recombinante (Tabla 3). Adicionalmente, se desprende que sólo una de las vacunas registradas (HEBERPENTAL) contiene tiomersal en su formulación.

TABLA 3: Componentes de las Vacunas comercializadas actualmente en Argentina.

	ENGERIX B (adulto/ pediátrico)	HEBERPENTA-L	HBVAXPRO	TWINRIX	HEXAXIM
Organismo productor	<i>Saccharomyces Cerevisiae</i> 3	<i>Pichia Pastoris</i> 1	<i>Saccharomyces Cerevisiae</i> 3	Cepa HM175?	<i>Hansenula Polymorpha</i> 2
Adyuvante	Hidróxido de Aluminio	Gel de Aluminio	Sulfato de aluminio hidrofosfatado	Hidróxido de Aluminio	-
Tiomersal	-	Si	-	-	-

Evaluación de la potencia de la vacuna de la hepatitis B

Dado que las vacunas son preparaciones que contienen sustancias antigénicas capaces de inducir inmunidad activa específica contra un agente infeccioso, el principio activo de la vacuna de la hepatitis B es un antígeno de la superficie del virus. Uno de los requerimientos regulatorios específicos es la valoración del producto terminado antes de la liberación del lote para su comercialización.

En el caso de la vacuna para la hepatitis B, el ensayo de valoración puede realizarse tanto *in vivo* como *in vitro*.

a) Método *in vivo*

El ensayo *in vivo* es el test de referencia para la evaluación de la potencia. Se trata de un ensayo de inmunogenicidad que se basa en la capacidad que tiene un animal de laboratorio para desarrollar anticuerpos contra el principio activo de la vacuna y se miden por un método inmunológico. Este ensayo requiere la distribución de animales en grupos homogéneos (estudio y control) y la inyección por vía intraperitoneal distintas diluciones (dosis) de la vacuna. Luego de un intervalo, de 4 a 6 semanas en las que los animales permanecen en condiciones controladas, se toman las muestras que pueden ser almacenadas a -20°C hasta el momento de utilizarlas. El suero obtenido se analiza por ELISA para la determinación de respuesta al antígeno^[7] y se calculan los porcentajes de seroconversión. De acuerdo a lo establecido en Farmacopea Argentina, el análisis de datos debe realizarse siguiendo un modelo de líneas paralelas de curvas de respuestas versus logaritmo de la dosis; debe determinarse la potencia de la preparación a ser examinada relativa a la preparación de referencia; y además se debe calcular la potencia relativa y la dosis efectiva que produce el efecto deseado en el 50 % de la población (DE50)^[8].

b) Método *in vitro*

Debido a la creciente tendencia de reemplazo del uso de animales en pruebas de laboratorio y a una mayor facilidad en el análisis, los métodos *in vivo*, desde hace años, están siendo reemplazados por métodos *in vitro*. En nuestro país, organizaciones como la Red Argentina de Métodos Alternativos (RAMA) y la Asociación Argentina de Ciencia y Tecnología de Animales de Laboratorio (AACyTAL) están comprometidos con el uso ético y trabajan en esta línea de reducción del uso de animales de experimentación, especialmente en la elaboración de un proyecto de ley en línea con reglamentaciones y estándares internacionales, y acorde a las particularidades de nuestro país.

Este reemplazo sólo se permite siempre que se demuestre fehacientemente a la autoridad sanitaria la correlación entre ambos métodos. Es decir, se debe asegurar que la vacuna que pasa el test *in vitro* también pasaría el de inmunogenicidad (*in vivo*). Además, cuando se realiza el método *in vitro*, las pruebas deben realizarse necesariamente sobre el lote final, a diferencia de los otros que se realizan en el granel final y pueden omitirse en el lote final^[4-6]. En este sentido, y también con el objetivo de disponer de métodos alternativos *in vitro* que sean más rápidos y menos costosos llevó a que, tanto la Farmacopea Europea como la Farmacopea Británica^[2,3], admitieran controles de potencia mediante ambas técnicas en muestras representativas.

Respecto a las técnicas de laboratorio más utilizadas en los métodos *in vitro*, se destacan principalmente las pruebas de aglutinación pasiva, los métodos de radioinmunoensayo o los métodos inmunoenzimáticos. Los materiales requeridos para estos tipos de ensayos son *kits* simples, de fácil uso, costosos y que no son de uso general para todos los tipos de vacunas del mercado. Un ejemplo de ello, es el test de ELISA, en el cual existen particularidades según se trate del análisis del producto a granel o del producto terminado, dado que la presencia de adyuvantes en este último influye en la determinación de contenido de antígeno.

DISCUSIÓN

Uno de los requerimientos regulatorios específicos es la valoración del producto terminado antes de la liberación del lote para su comercialización. Para dicho ensayo, tanto el método *in vivo* como el método *in vitro*, presentan ventajas y desventajas. En líneas generales, los segundos son más rápidos y constituyen una alternativa al uso de animales de laboratorio, tendencia que se impone a nivel mundial. No obstante, los *kits* empleados en estos procedimientos suelen ser de alto costo y las metodologías son desarrolladas por cada laboratorio para sus propios productos, por lo que, en general, no son aplicables a otros productos del mercado cuya composición no es similar. Por otra parte, los ensayos *in vivo*, aplicables a todas las vacunas que se comercializan en Argentina, implican procesos complejos que requieren de instalaciones especializadas, un número elevado de animales de laboratorio, personal altamente entrenado y tiempos de ensayo mucho mayores.

En este sentido, un próximo objetivo dentro de la Dirección de Evaluación y Control de Biológicos y Radiofármacos del Instituto Nacional de Medicamentos será el desarrollo y validación de un método *in vitro* para la determinación de la potencia de la vacuna de hepatitis B, aplicable a todos los productos del mercado, que asegure la calidad y esté en línea con la reducción y/o reemplazo del uso de animales de laboratorio por metodologías alternativas.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Khan T., Jung I. H., Khan A., Zaman G. *Classification and sensitivity analysis of the transmission dynamic of hepatitis B*. Theor Biol Med Model. 2017; 14: 22.
- [2] http://www.msal.gob.ar/dicei/images/stories/equipos-salud/2015-01_uso-timerosal-en-vacunas.pdf
- [3] British Pharmacopoeia. Hepatitis B Vaccine (rDNA)
- [4] WHO Technical Report Series, *Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of recombinant hepatitis B vaccines* No. 786 and Annex 4 of WHO Technical Report Series, No. 889
- [5] WHO Technical Report Series, *Requirements for Hepatitis B vaccine prepared from plasma*. No. 771. 1988
- [6] WHO Technical Report Series, *Requirements for Hepatitis B vaccine made by recombinant DNA techniques in yeast*. No. 760. 1987
- [7] Mabel Izquierdo-López, Karelía Cosme-Díaz, Gerardo García-Illera, Zoe Núñez-Lamotte, Yamila Martínez-Cuéllar, Maribel Vega-Simón, Lourdes Costa-Anguiano, Marisel Quintana-Esquivel, Ileana Rosales-Torres, Omar Mosqueda-Lobaina. Establecimiento de un ensayo de potencia *in vivo* para el antígeno de superficie recombinante del virus de la Hepatitis B, en vacunas monovalentes y combinadas. Finlay Ediciones. 2014.
- [8] Farmacopea Argentina. 8va edición. Vacuna Contra la Hepatitis B AND recombinante.

DISPOSITIVOS DE TABACO SIN COMBUSTIÓN

TOBACCO DEVICES WITHOUT COMBUSTION

Emilce Vicentin, Laura Ferreiros Gago, Norberto Barabini, Pablo Copertari,
Virgilio Petrungaro, Jimena Bugna, Roberto Lede.

Programa de Evaluación de Tecnologías Sanitarias.

Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica.

Contacto: evicenti@anmat.gov.ar

Palabras clave: cigarrillo electrónico, vapeo, dispositivos de tabaco sin combustión, nicotina, tabaquismo.

Keywords: electronic cigarette, vaping, tobacco devices without combustion, nicotine, tabaquism.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) afirma que *“El tabaco es una de las mayores amenazas para la salud pública que ha tenido que afrontar el mundo. Mata a más de 7 millones de personas al año, de las cuales más de 6 millones son consumidores directos y alrededor de 890.000 son no fumadores expuestos al humo ajeno”*^[1]

Fumar es el mayor factor de riesgo prevenible de enfermedades crónicas y muerte en el mundo. Las estrategias para disminuir los daños causados por las enfermedades relacionadas con el tabaquismo se centran en la reducción tanto de la exposición a sustancias tóxicas como del suministro de nicotina.

Con el propósito de abandonar esta adicción, son muchas las personas que buscan una solución alternativa. Actualmente, se presentan opciones farmacológicas (parches y chicles de nicotina, bupropión, vareniclina, entre otras) y dos dispositivos con tal fin: el cigarrillo electrónico (CE) y un nuevo producto para consumir tabaco sin combustión (TSC).

El CE irrumpió en el mercado como una alternativa para dejar de fumar o reducir el consumo de tabaco. Sin embargo, hasta el momento no existe evidencia científica para afirmar que sean efectivos para dejar de fumar, ni sean seguros a largo plazo en comparación con los tratamientos actuales aprobados para abandonar el hábito^[2].

A nivel mundial, el creciente consumo de CEs ha impulsado a las tabacaleras a rediseñar sus productos y así posicionarse nuevamente en el mercado. Tal es el caso de los llamados dispositivos de tabaco sin combustión (DTSC) que replican el ritual del hábito de fumar proporcionando nicotina de una manera similar a la de los cigarrillos tradicionales (CTs). Los mismos son promocionados como productos que *“generan un vapor sabroso, manteniendo el verdadero sabor del tabaco, sin humo, sin cenizas y menos olor”*^[3]. El DTSC fue anunciado como un *“cigarrillo electrónico mejorado”* o *“una alternativa menos dañina para los fumadores”*^[4] que tendría por finalidad reducir los riesgos asociados al consumo de tabaco.

Este nuevo producto contiene tabaco molido mezclado con glicerina vegetal y otras sustancias no reveladas, fijadas con fibras naturales de celulosa y goma guar para mantenerlo cohesionado^[5].

TECNOLOGÍA

Los DTSCs se componen de una unidad de calentamiento (formada por batería, software de control y lámina de calentamiento), los cigarrillos exclusivos (llamados Heets® o HeetsSticks®) y el dispositivo para realizar la carga de la batería (ver Figura 1).

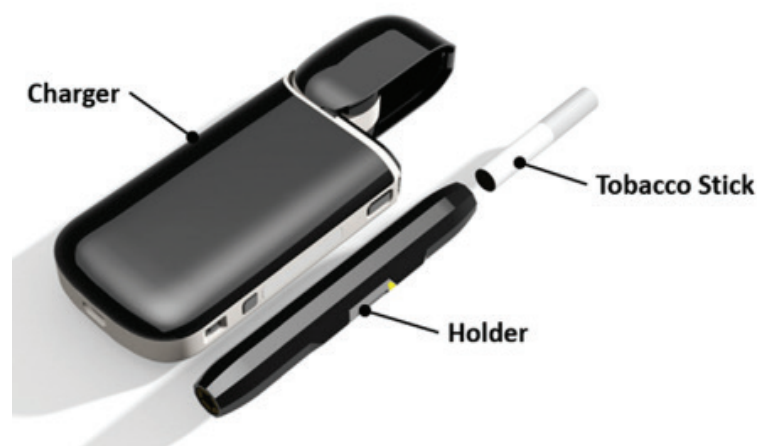


Figura 1. Componentes y accesorios del IQOS: unidad de calentamiento (holder), los cigarrillos (tobacco stick) y el dispositivo de carga (charger)
FUENTE: Smith R et al. Evaluation of the Tobacco Heating System 2.2. Part 1: 3Description of the system and the scientific assessment program.

Los cigarrillos de este dispositivo, diseñados para ser insertados en la lámina de calentamiento, se parecen mucho a los tradicionales, pues contienen tabaco, papel y filtro, y se fuman de manera similar, aunque son más cortos. La lámina calienta el tabaco entre 300° y 350°C sin llegar a quemarlo, esto evitaría la combustión (pirólisis) y la liberación de los productos tóxicos, según afirma el fabricante. Además, no desprenden humo sino vapor, lo cual los asemeja a los CEs, aunque éstos no utilizan tabaco y en algunos casos tampoco nicotina.

Los DTSCs presentan similitudes y diferencias con los CTs (ver Figura 2). Si

bien las concentraciones de tabaco y nicotina son similares entre ambos, los cigarrillos específicos del DTSC presentan las siguientes características:

- contienen, entre otros componentes, tabaco prensado empapado en propilenglicol y glicerina,
- necesitan de un dispositivo especial para calentar las unidades de tabaco a fin de proporcionar temperaturas menores a 400°C y, así, evitar la pirólisis (en los CTs se requieren 800°C), y
- liberarían menor cantidad de sustancias tóxicas que los CTs.

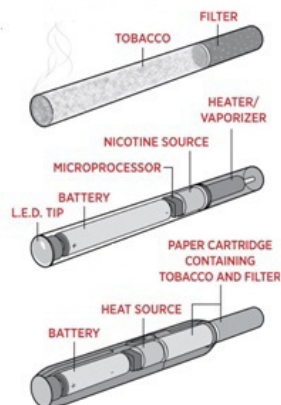


Figura 2. Composición del cigarrillo tradicional (arriba), cigarrillo electrónico (medio) y dispositivos de tabaco sin combustión (abajo).

Si bien los DTSCs son dispositivos electrónicos de aspecto y mecanismo de acción similares a los de los CE (ver **Figura 2**), la diferencia radica en que éstos últimos calientan un líquido que puede contener sustancias como propilenglicol, glicerina y nicotina, entre otras. Esta mezcla está cargada en el cartucho y es la que luego se convierte en el vapor inhalado.

Actualmente, los DTSC se comercializan en Canadá, gran parte de la Unión Europea (UE), Nueva Zelanda, Rusia y Japón, entre otros países. En Latinoamérica ya está disponible en Colombia^[6].

La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) establece que los dispositivos cuya finalidad sea la de dejar de fumar y que liberan o contienen nicotina son considerados medicamentos. Sin embargo, los DTSCs están sujetos a las mismas regulaciones que los cigarrillos comunes, pues la Directiva 2014/40 establece que son productos del tabaco y los encuadra como novedosos ya que son “*productos del tabaco que: 1º no está comprendido en ninguna de las siguientes categorías: cigarrillos, picadura para liar, tabaco de pipa, tabaco para pipa de agua, cigarrillos puros, cigarrillos, tabaco de mascar, tabaco de uso nasal o tabaco de uso oral; y 2º se comercialice después del 19 de mayo de 2014*”^[7].

En Estados Unidos, estos dispositivos no se encuentran aprobados. En el año 2016, la empresa presentó ante la *Food and Drug Administration* (FDA) la documentación necesaria para que el DTSC sea considerado como un producto regulado bajo su Programa de Productos de Tabaco de Riesgo Reducido; para ello deberá demostrar que el mismo “*reduce significativamente el riesgo de enfermedades relacionadas con el tabaco y beneficia la salud de la población como un todo, tanto a los usuarios de los productos de tabaco como aquellos que no los usan*”^[8,9].

En nuestro país, el inciso a) del ARTÍCULO 4º de la Ley 26.687, establece que los productos *elaborados con tabaco que sean destinados a ser fumados, chupados, masticados, aspirados, inhalados o utilizados como rapé*, se encuentran regulados por dicha normativa. Por otra parte, la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) respecto a los DTSCs, determinó que su uso debe restringirse hasta que se conozca más sobre ellos^[10].

EVIDENCIA CIENTÍFICA

Los ocho estudios, no publicados, conducidos por el fabricante “*demonstrarían que sus dispositivos reducen la toxicidad, disminuyen los niveles de daños y potenciales daños químicos y tienen un impacto mínimo en pulmón o corazón*”^[11]. Pero, dado que la evidencia no está disponible ni sus informes fueron controlados por un organismo idóneo, sin conflicto de intereses, no es posible asegurar que estos dispositivos sean menos tóxicos que los cigarrillos tradicionales.

Por otra parte, estudios recientes demuestran que en el DTSC se encuentran sustancias tóxicas que son nocivas tanto para el organismo de los fumadores como para quienes se encuentran cercanos a su entorno. A continuación, se describen estudios que demuestran esto.

El informe publicado por Auer^[12] mostró que los DTSCs contenían compuestos orgánicos volátiles, hidrocarburos aromáticos policíclicos y monóxido de carbono. Los autores concluyen que los DTSCs deben tener las mismas prohibiciones de fumar en ambientes cerrados que rigen para CTs.

El estudio de Bekki^[13] tuvo por objetivo a) evaluar los compuestos dañinos (nicotina, alquitrán, monóxido de carbono (CO) y nitrosaminas específicas del tabaco (NET)) presentes en el humo de la corriente principal (humo, en este caso vapor, de tabaco que exhalan los fumadores) y en el relleno de los cigarrillos del DTSC y b) comparar sus concentraciones con la de los CTs. Los autores hallaron que las concentraciones de nicotina presentes en los rellenos de tabaco y en el humo de la corriente principal de los DTSCs eran casi iguales que la de los CTs, mientras que la concentración de NET era una quinta parte y el CO era una centésima de los correspondientes a CTs. El informe concluye que los compuestos tóxicos no se eliminan por completo de la corriente de humo principal de los DTSCs, por lo que es necesario reconsiderar los efectos de este nuevo producto sobre la salud.

Protano^[14] en su estudio estimó la dosis de partículas depositadas en los sistemas respiratorios de individuos de 3 meses a 21 años de edad utilizando el modelo de dosimetría de partículas de trayectos múltiples provenientes de CTs, una pipa, cigarrillos enrollados a mano, CE y DTSCs. Independientemente del dispositivo para fumar, las dosis más altas las recibieron los bebés y estas alcanzaron $9,88 \times 10^8$ partículas/kg de peso corporal durante una sesión. Las dosis para los CE resultaron significativamente menores que las de los DTSCs. Por otra parte, se encontró que el vapor del DTSC libera partículas menores de 0,5 micras de diámetro que podrían alcanzar la región alveolar. Asimismo, dichas dimensiones permitirían que las mismas permanezcan en suspensión, pudiendo afectar a los no fumadores. El estudio también mostró que la exposición a dichas micropartículas es equivalente a lo que ocurriría si estuviéramos expuestos a 10 minutos en un área de tráfico pesado.

El estudio de Ruprecht^[15] informó que se producen emisiones estadísticamente significativas de varios compuestos orgánicos incluidos

n-alcanos, ácidos orgánicos y variedades de aldehído tales como formaldehído, acetaldehído y acroleína. Los autores concluyen que fumar/vapear en ambientes públicos cerrados debe ser restringido.

Respecto a los fumadores pasivos, otro estudio de Protano^[16] enunció que es probable que una alta proporción de las partículas inhaladas durante la exposición al humo de segunda mano del tabaco, llegue a la región alveolar. Según la Comisión Europea, el humo de segunda mano del tabaco es una causa importante de mortalidad, morbilidad y discapacidad; en 2002 en la UE, esta Comisión estimó que más de 70.000 adultos murieron debido a esta exposición; muchos de ellos eran no fumadores^[17].

Por otra parte, el estudio cruzado, aleatorizado y controlado de Picavet^[18] concluyó que efectivamente el DTSC libera nicotina y alcanza perfiles farmacocinéticos similares al CT. Los Eventos Adversos (EAs) más frecuentemente encontrados en los 28 pacientes que culminaron el estudio se muestran en la **Tabla 1**.

TABLA 1. EAs más frecuentes encontrados en DTSC Y CT.

EAs	DTSC	CT
náuseas	4	5
cefalea	5	2
mareos	4	2
presíncope	1	4
dolor abdominal	0	2

DISCUSIÓN

Los DTSCs son propuestos por el fabricante como una alternativa para reducir los efectos nocivos del tabaco para la salud de todo fumador^[19]; sin embargo, no declara la composición de los cigarrillos del DTSC los cuales, como se observó anteriormente, presentan cantidades sustanciales de toxinas cancerígenas. Referenciamos a continuación algunos de estos compuestos:

- La nicotina es un compuesto químico que se encuentra en las plantas de tabaco y que genera rápida adicción; en dosis muy grandes puede ser tóxica o incluso letal^[20].
- Los compuestos orgánicos volátiles (COVs) se originan por gasificación o por evaporación de sustancias derivadas del petróleo o de otras sustancias orgánicas^[21]; algunos de ellos son conocidos agentes carcinógenos. La exposición a estos compuestos a largo plazo podría causar lesiones de hígado, riñones y sistema nervioso central, mientras que a corto plazo produce irritación de los ojos y las vías respiratorias, cefalea, mareo, trastornos visuales, fatiga, pérdida de coordinación, reacciones alérgicas de la piel, náuseas y trastornos de la memoria^[22].
- Las nitrosaminas han sido clasificadas por el Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (IARC, por sus siglas en inglés) como carcinógenos del Grupo 1^[23,24] por estar asociadas al cáncer en seres humanos.
- El acenafteno, un hidrocarburo aromático policíclico que es carcinógeno, se halló en el vapor de los DTSCs en una concentración cuyo valor representa el triple de la que se encontró en los cigarrillos convencionales^[12].
- Por otra parte, la exposición a la exhalación de la corriente principal induce genotoxicidad (la capacidad para causar daño al material genético), provocando la formación de aductos de ADN, especies reactivas de oxígeno, rupturas en la cadena de ADN y formación de puentes en la etapa de anafase del ciclo celular^[25].

Según el fabricante del DTSC, éste reduce en más del 90% los componentes dañinos del CT^[5], lo cual está en discusión por la evidencia expuesta precedentemente. De acuerdo al Comité Científico sobre valores Límites de Exposición Ocupacional (SCOEL) para los cancerígenos genotóxicos, no sería posible establecer un valor límite basado en efectos sobre la salud^[26]. Además, tal afirmación del fabricante es rechazada rotundamente por el principio 1 del Convenio Marco de la OMS para el Control del Tabaco y las intenciones de la Conferencia de la Partes (al cual nuestro país adhirió en 2003), debido a que no hay evidencia científica que demuestre la existencia de un nivel seguro de exposición al humo (vapor) de tabaco ni un umbral de toxicidad^[27].

A raíz de que estos DTSCs contienen tabaco y que tanto su aspecto como ritual y experiencia sensorial resultan parecidos a la de los cigarrillos comunes, puede suponerse que constituirían una nueva puerta de entrada a la adicción, especialmente en jóvenes y adultos o en ex fumadores que sucumben ante la novedad y re-normalizan el hábito.

CONCLUSIONES

A la luz de la evidencia disponible, es posible aseverar que estamos en presencia de un nuevo dispositivo que no pretende la deshabituación sino la sustitución del cigarrillo tradicional por éste.

Asimismo, el nuevo el DTSC es promocionado como un producto que afectaría a la salud en un grado menor, lo cual puede inducir al consumidor a pensar que se encuentra utilizando un producto seguro, cuando en realidad no lo es.

En este sentido, la Sociedad Española de Especialistas en Tabaquismo concluye que *“estos mecanismos de venta de nicotina, sustancia altamente adictiva y tóxica, siguen siendo una manera sibilina de perpetuar un negocio que provoca daños en la salud de las personas fumadoras y que tan solo persiguen lavar su imagen y continuar con su negocio”*⁵.

BIBLIOGRAFÍA

1. OMS: centro de prensa [internet]. OMS | Tabaco: © OMS 2018 [Consultado 01 noviembre 2017]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs339/es/>
2. ANMAT [internet]. INFORME_CE_20-12-2016.pdf: © ANMAT 2016 [Consultado 01 noviembre 2017]. Disponible en: http://www.anmat.gov.ar/ets/INFORME_CE_20-12-2016.pdf
3. Philip Morris International [internet]. IQOS | PMI - Philip Morris International: © PHILIP MORRIS INTERNATIONAL MANAGEMENT SA [Consultado 01 noviembre 2017]. Disponible en: <https://www.pmi.com/glossary-section/glossary/iqos>
4. Philip Morris International [internet]. Our Findings to Date | PMI - Philip Morris International: © PHILIP MORRIS INTERNATIONAL MANAGEMENT SA [Consultado 01 noviembre 2017]. Disponible en: <https://www.pmi.com/science-and-innovation/our-findings-to-date>
5. SEDET [internet]. SEDET INFORMA: IQOS, cigarrillos de baja combustión. - SOCIEDAD ESPAÑOLA DE ESPECIALISTAS EN TABAQUISMO: © 08 de Junio de 2017 - Sociedad Española de Especialistas en Tabaquismo SEDET [Consultado 01 noviembre 2017]. Disponible en: <http://www.sedet.org/sedet-informa-iqos-cigarrillos-baja-combustion/>
6. Philip Morris International [internet]. IQOS | PMI - Philip Morris International: © PHILIP MORRIS INTERNATIONAL MANAGEMENT SA

- [Consultado 01 noviembre 2017]. Disponible en: <https://www.pmi.com/smoke-free-products/iqos-our-tobacco-heating-system>
7. Parlamento Europeo y del Consejo [internet]. Directiva 2014/40/UE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 3 de abril de 2014, relativa a la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas de los Estados miembros en materia de fabricación, presentación y venta de los productos del tabaco y los productos relacionados y por la que se deroga la Directiva 2001/37/CE Texto pertinente a efectos del EEE: 2014 [Consultado 01 noviembre 2017]. Disponible en: https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/tobacco/docs/dir_201440_es.pdf
8. FDA [internet]. UCM560044.pdf: nd [Consultado 01 noviembre 2017]. Disponible en: <https://www.fda.gov/downloads/TobaccoProducts/Labeling/MarketingandAdvertising/UCM560044.pdf>
9. Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (EE. UU.) [internet]. Centro Nacional de Prevención de Enfermedades Crónicas y Promoción de la Salud (EE. UU.); Oficina de Tabaquismo y Salud (EE. UU.). Cómo el humo del tabaco causa enfermedad: la biología y la base conductual para la enfermedad atribuible al tabaquismo: un informe del cirujano general. Atlanta (GA): Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (EE. UU.); 2010. 2, [Consultado 01 noviembre 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK53013/>
10. ANMAT. Disponible en: http://www.anmat.gov.ar/comunicados/Vapeo_TSC_09-01-18.pdf
11. Philip Morris International [internet]. Introduction | PMI Science: ©2015 Philip Morris International Management SA [Consultado 01 noviembre 2017]. Disponible en: <https://www.pmiscience.com/introduction>
12. Auer R, Concha-Lozano N, Jacot-Sadowski I, Cornuz J, Berthet A. *Research Letter: Heat not burn tobacco cigarettes: smoke by any other name*. JAMA Internal Medicine. 2017; E1-3.
13. Bekki K, Inaba Y, Uchiyama S and Kunugita N. *Comparison of Chemicals in Mainstream Smoke in Heat-not-burn Tobacco and Combustion Cigarettes*. J UOEH. 2017; 39: 201-7.
14. Protano C, Manigrasso M, Avino P, Vitali M. *Second-hand smoke generated by combustion and electronic smoking devices used in real scenarios: Ultrafine particle pollution and age-related dose assessment*. Environ Int. 2017; 107:190-5.
15. Ruprecht A, De Marco C, Saffari A, Pozzi P, Mazza R, Veronese C et al. *Environmental pollution and emission factors of electronic cigarettes, heat-not-burn tobacco products, and conventional cigarettes*. Aerosol Science and Technology. 2017; 51:664:84.
16. Protano C, Manigrasso M, Avino P, Sernia S, Vitali M. *Second-hand and smoke exposure generated by new electronic device (IQOS® and e-cigs) and traditional cigarettes: submicron particle behaviour in human respiratory system*. Ann Ig. 2016; 28: 109-12.
17. COMISION EUROPEA [internet]. *European Commission - Press release - Tobacco in the EU : Exposure to second hand smoke reduced, but still too high, says Commission report*: 2013 [Consultado 01 noviembre 2017]. Disponible en: http://europa.eu/rapid/press-release_IP-13-147_en.htm
18. Picavet P, Haziza C, Lama N, Weitkunat R, Lüdicke F. *Comparison of the Pharmacokinetics of Nicotine Following Single and Ad Libitum Use of a Tobacco Heating System or Combustible Cigarettes*. Nicotine & Tobacco Research. 2016; 18: 557-63.
19. REVISTA LIBRE MERCADO [internet]. Philip Morris quiere acabar con Marlboro: "Nuestro objetivo es un mundo sin humo" - Libre Mercado: nd [Consultado 01 noviembre 2017]. Disponible en: <https://www.libremercado.com/2017-08-06/philip-morris-quiere-acabar-con-marlboro-nuestro-objetivo-es-un-mundo-sin-humo-1276603614/>
20. *European Code Against Cancer* [internet]. *European Code Against Cancer - Does nicotine cause cancer?:* © IARC 2016 [Consultado 01 noviembre 2017]. Disponible en: <https://cancer-code-europe.iarc.fr/index.php/en/ecac-12-ways/tobacco/199-nicotine-cause-cancer>
21. Registro de Emisiones y Transferencia de Contaminantes. MMA - Ministerio del Medio Ambiente: nd [Consultado 01 noviembre 2017]. <http://www.mma.gov.cl/retc/1279/article-43797.html>
22. Tox town [internet]. Tox Town en español - Compuestos orgánicos volátiles (COV): Copyright 2013 [Consultado 01 noviembre 2017]. Disponible en: <https://toxtown.nlm.nih.gov/espanol/chemicals.php?id=41>
23. IARC [internet]. IARC Monographs- Classifications: © IARC 2018 [Consultado 01 noviembre 2017] Disponible en: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/index.php>
24. IARC [internet]. IARC Monographs- Classifications: © IARC 2018 [Consultado 01 noviembre 2017] Disponible en: http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/latest_classif.php
25. Romero B, Cuti M, Ascarrunz González M, Tirado Bustillos N. Efecto genotóxico del consumo de tabaco en estudiantes de la Facultad de Medicina de la UMSA que habitan en la altura. Biofarbo. 2008; 16: 67-71.
26. Gálvez V, Nies E, Sousa M, Tejedor J. Valores límite para cancerígenos: dos enfoques. Seguridad y salud en el trabajo. 2013; 73: 10-7.
27. WHO [internet]. Microsoft Word - Art.8 Guidelines_text.EN.doc : nd [Consultado 01 noviembre 2017]. Disponible en: http://www.who.int/fctc/cop/art%208%20guidelines_english.pdf

LA APLICACIÓN DE LA NANOTECNOLOGÍA EN MEDICAMENTOS: OPORTUNIDADES Y DESAFÍOS

APPLICATION OF NANOTECHNOLOGY IN DRUGS: OPPORTUNITIES AND CHALLENGES

Ismael D. Bianco^{a,b,c}, Cristian Casadoa, Viviana G. Dabbenea y R. Kiyomi Mizutamaria,^{c,d}

^aCentro de Excelencia en Productos y Procesos de Córdoba (CEPROCOR). ^bConsejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). ^cUniversidad Nacional de La Rioja - Argentina. ^dFacultad de Odontología, Universidad Nacional de Córdoba - Argentina.

Contacto: ibianco@ceprocor.uncor.edu; ibianco@hotmail.com

Palabras clave: Medicina personalizada, principio activo, nanoestructura
Key words: Personalized medicine, active substance, nanostructure.

El 29 de Diciembre de 1959, Richard Feynman dictó la conferencia “*There is plenty of room at the bottom*” en la cual sugería que moviéndonos en la escala de átomos y moléculas podríamos descubrir un mundo nuevo de oportunidades. Aunque recién en 1981 G. Binning y H. Rohrer descubrieron el microscopio de efecto túnel, abriendo la posibilidad de ver y manipular átomos y moléculas, “*There is plenty of room at the bottom*” fue una visión de lo que hoy llamamos nanotecnología.

El concepto de nanotecnología comprende el diseño de estructuras que poseen propiedades específicas diferentes a aquellas de sus componentes y que se logran por poseer dimensiones nanométricas^[1]. La aplicación de la nanotecnología en las ciencias farmacéuticas, ha conducido a la creación de nanoestructuras capaces de vehiculizar principios activos (PAs); ampliando la diversidad de compuestos que pueden ser usados como agentes terapéuticos^[1-3]. De esta manera, el PA puede asociarse a las nanoestructuras físicamente a través de su encapsulamiento, como en el caso de liposomas y partículas poliméricas, o químicamente a través de su conjugación con una molécula (p.ej.: polímeros, proteínas, etc.)^[1-3]. Independientemente de sus características químicas, la formulación del PA en nanoestructuras puede mejorar su perfil de eficacia/seguridad, debido a que incrementan su biodisponibilidad, lo cual permite disminuir la dosis y su toxicidad^[4-6].

Desde la aprobación en 1995 del primer nanoformulado con fines terapéuticos, Doxyl® (doxorubicina en liposomas pegilados para tratamiento oncológico), las diferentes nanoformulaciones que fueron apareciendo nos han revelado cuán activos pueden ser estos vehículos^[1]. Así, hemos observado que la permanencia de las nanoestructuras en circulación central se ve aumentada por las dimensiones de estas partículas que no pueden atravesar el endotelio vascular normal y que, además, son preferencialmente retenidas en el microambiente tumoral, debido a que si atraviesan la vasculatura defectuosa que lo circunda, quedando confinadas gracias al ineficiente drenaje linfático. Esto nos ha demostrado que el

tamaño de la partícula puede modificar el recorrido del PA a través del organismo mediante un mecanismo de *targeting* (direccionamiento) pasivo, conocido como efecto EPR (*Enhanced Permeation and Retention*)^[1].

La ingenierización de las nanoestructuras, se lleva a cabo a través del control preciso de su composición química, tamaño y propiedades de superficie. Por ejemplo, la funcionalización con ligandos específicos de células o tejidos, aumenta la captación de las nanoestructuras por las células blanco o su distribución en el tejido blanco, mecanismo conocido como direccionamiento o *targeting* activo. Incluso, las nanoestructuras podrían diseñarse de manera tal que liberen el PA ante un determinado estímulo externo, tal como pH o temperatura, dando lugar a las denominadas “estructuras inteligentes” (*smart*)^[1]. Más excitante aún es la oportunidad que brinda la ingenierización en relación a la respuesta individual que contribuye a avanzar en el camino de la medicina personalizada^[1,6].

Numerosas nanoformulaciones están siendo comercializadas, muchas de ellas previamente autorizadas en formas farmacéuticas tradicionales pero con escasa utilidad clínica debido a su elevada toxicidad. La mayoría de ellas son indicadas en el tratamiento de cáncer, aunque también están disponibles para el tratamiento de otras enfermedades, tales como infecciones fúngicas y víricas. En los últimos años, más de 250 productos nanotecnológicos entraron en el *pipeline* de industrias farmacéuticas, por lo que se prevé que muchas más estarán disponibles en un futuro cercano. En este punto, es importante hacer notar que ya existen nanoformulaciones copias de las innovadoras^[1].

Considerando el aspecto estructural se han desarrollado formulaciones nanotecnológicas basadas en liposomas, nanocristales, microemulsiones, coloides de hierro-carbohidrato, nanopartículas poliméricas y complejos albúmina-citostático, entre otras. Una característica de todos estos es que poseen varios grupos químicos diferentes en un mismo agregado multimolecular, lo que conduce a la inevitable situación de que existan varias conformaciones que minimizan la energía final del agregado

supramolecular. Por lo tanto, los nanoformulados no son estructuras homonucleares, sino una multitud compleja de arreglos siempre fluctuantes, cuyas propiedades están representadas por valores promedio^[1,7]. Debido a ello, y particularmente a la elevada relación superficie/volumen, las nanoestructuras presentan mayor reactividad que cada uno de sus componentes, mayor adsorción a proteínas e interacción con los sistemas biológicos, y mayor sensibilidad a pequeños cambios capaces de provocar interacciones radicalmente diferentes de las deseadas^[1, 4-6, 8]. Todo esto sin dejar de considerar la importancia de la interacción con el sistema inmune debido a que alteraciones en su función impactarán en la biocompatibilidad, como así también en la biodistribución de las mismas^[10-13].

Sin duda alguna, los beneficios de las nanoformulaciones están condicionados a su perfil de seguridad respecto tanto a la toxicidad aguda como crónica. Por lo tanto, el éxito de la traslación de las nanoestructuras a la clínica depende en gran medida de la rigurosa evaluación de su perfil de eficacia/seguridad, de manera que garantice una relación riesgo/beneficio óptima^[12-14]. No obstante, la compleja estructura de los nanoformulados plantea un gran desafío en el proceso de caracterización (Tabla 1). Afortunadamente, la tecnología moderna nos ofrece un creciente abanico de herramientas que posibilita dicho proceso. Pero en el umbral de esta posibilidad, aparece un desafío aún mayor: ¿Cuáles de todas estas características son relevantes y significativas en su desempeño terapéutico? Se sabe que las características de las nanoestructuras son altamente dependientes de su complejo proceso de producción, lo cual ha introducido el concepto de “*el producto es el proceso*”. En otras palabras, el control de dicho proceso también es fundamental para asegurar la calidad del producto (Tabla 1) y por ello es fundamental definir racionalmente la química, el proceso y el control (CMC, *Chemistry, Manufacturing, Control*).

La calidad a través del diseño (*QbD, Quality by Design*), usando un enfoque sistemático del desarrollo del producto, brinda una estrategia para identificar los parámetros críticos del proceso y los atributos de los materiales para guiar la optimización del mismo.

Además, la estructura en sí misma, impone un gran desafío en la evaluación de su eficacia/seguridad, dado que se ha observado que pueden interferir en los análisis de control de calidad comúnmente usados en medicamentos tradicionales. Un ejemplo, es la interferencia de ciertas nanoestructuras en la determinación del contenido de endotoxinas a través del reactivo LAL (Lisado de Amebocitos de *Limulus*)^[15]. A pesar de ello, algunos nanoformulados copias de los innovadores llegaron al mercado siguiendo el esquema regulatorio genérico (p.ej. doxorrubicina en liposomas pegilados). Este procedimiento ha sido objeto de revisión y actualmente se requieren estudios comparativos de los productos copias con el de referencia^[1]. A la luz de las evidencias, una regulación siguiendo los principios aplicados a los medicamentos biotecnológicos “copias”, es decir basado en “similitud”, parece ser la más adecuada para asegurar la calidad de los “nanosimilares”. Recientemente, la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), la autoridad regulatoria argentina, ha constituido un foro de trabajo para elaborar guías normativas para medicamentos de síntesis nanotecnológica.

TABLA 1. Puntos de control para el aseguramiento de la calidad de nanoformulados.

ANÁLISIS	COMPO- NENTES	PA	Caracterización química
		EXCIPIENTES	Impurezas específicas
			Endotoxina
	NANO- PARTÍCULA (NP)	COMPOSICIÓN	Relación PA/NP
			PA libre y encapsulado
			Distribución de PA en la NP
		CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA	Tamaño y distribución de tamaño.
			Estructura
			Fase y temperatura de transición de fases
			Caracterización de superficie
			Potencial Zeta
	PRODUCTO FINAL	Ligandos	
		PEG	
		pH/ osmolaridad/ viscosidad	
		Residuos de solventes	
Esterilidad/ endotoxinas			
PROCESO DE PRODUC- CIÓN	Estabilidad (PA/excipientes/ estructura)		
	Interacción con sistemas biológicos		
	Formación de NP		
	Ajuste/ Control de tamaño de NP (top-down/bottom-up)		
	Incorporación de PA (física/química)		
Purificación de NP			
Esterilización			

OPORTUNIDADES Y DESAFIOS - PERSPECTIVAS

El desarrollo de la nanotecnología nos posibilita la ingenierización de nanoestructuras conteniendo PA, lo cual potencialmente nos permite modificar el comportamiento de la misma en el organismo, a través del control de su composición química, tamaño, forma y propiedades de su superficie. Así, nos brinda la oportunidad de un diseño preciso y controlado de medicamentos para lograr mejores perfiles de eficacia y seguridad.

No obstante, nos plantea nuevos desafíos. Por ejemplo:

- ¿Cuáles son los atributos críticos que nos permiten asegurar la eficacia y seguridad entre diferentes productos, lotes y plantas de producción?
- ¿Cómo caracterizar los nanoformulados y mediante qué métodos analíticos?
- ¿Cómo se modifica el perfil de biodistribución y toxicidad de los PA al incorporarlos en una nanoestructura determinada?

El avance en el conocimiento de la compleja relación entre las características físico-químicas de las nanoestructuras y su interacción con los sistemas

biológicos, junto con el desarrollo de nuevos ensayos *in vitro* altamente predictibles, harán posible maximizar el éxito de esta tecnología. Además, la información provista por las diferentes plataformas de diagnóstico en desarrollo (genómica, proteómica, glicómica, etc.) permitirán identificar nuevos blancos y, consiguientemente, nuevos agentes terapéuticos para el alcance de una medicina de precisión. Este escenario nos permite imaginar que en un futuro no muy lejano dispondremos de medicamentos que logren la cura efectiva de un número creciente de enfermedades. Así, como afirma el reciente premio Nobel de química Bernard Feringa “controlar las propiedades a nivel molecular nos permitirá construir nanomáquinas que el doctor del futuro inyectará e irán a buscar (y curar) a una célula enferma”^[1].

CARACTERÍSTICAS DE NANOFORMULADOS

- Multitud de estructuras estrechamente relacionadas.
- El complejo de estructuras es el PA.
- Sus propiedades no pueden ser caracterizadas completamente por análisis fisicoquímicos.
- La robustez y el estricto control del proceso de producción son fundamentales para la reproducibilidad del producto.

REFERENCIAS

- [1] Bianco, I.D., Ceballos, M.R., Casado, C., Dabbene, V.G., Rizzi, C., Mizutamari, R.K. *Curr Pharm Des* 2017; 23: 1-13.
- [2] Allen, TM, Cullis, PR. *Liposomal drug delivery systems: from concept to clinical applications*. *Adv. Drug Deliv Reviews* 2013; 65: 36-48.
- [3] Fenske, DB, Chonn A, Cullis PR. *Liposomal Nanomedicines: An Emerging Field*. *Toxicol Pathol* 2008, 36: 21-29.
- [4] Albanese A, Tang PS, Chan WC. *The effect of nanoparticle size, shape, and surface chemistry on biological systems*. *Ann Rev Biomed Eng* 2012; 14: 1-16.
- [5] Aggarwal P, Hall JB, McLeland CB, Dobrovolskaia MA, McNeil SE. *Nanoparticle interaction with plasma proteins as it relates to particle biodistribution, biocompatibility and therapeutic efficacy*. *Adv Drug Deliv Rev* 2009; 61: 428-37.
- [6] Zhang XQ, Xu X, Bertrand N, Pridgen E, Swami A, Farokhzad OC. *Interactions of nanomaterials and biological systems: Implications to personalized nanomedicine*. *Adv Drug Delivery Rev* 2012; 64: 1363-1384.
- [7] Bianco, ID, Alasino RV, Leonhard V, Beltramo DM. *Thermodynamic and kinetic aspects involved in the development of Nanocarriers and Drug Delivery Systems Based on Cationic Biopolymers*. *Curr Pharm Des* 2016; 22: 3429-3444.
- [8] Ilinskaya, Dobrovolskaia MA. *Nanoparticles & the blood coagulation system, part I: benefits of nanotechnology*. *Nanomedicine* 2013; 8: 773-784.
- [9] Ilinskaya AN, Dobrovolskaia MA. *Nanoparticles & the blood coagulation system. Part II: safety concerns*. *Nanomedicine* 2013; 8: 969-981.
- [10] Dobrovolskaia MA. *Pre-clinical immunotoxicity studies of nanotechnology-formulated drugs: Challenges, considerations and strategy*. *J Control Rel* 2015; 220: 571-583.
- [11] Szebeni J, Muggia F, Gabizon A, Barenholz Y. *Activation of complement by therapeutic liposomes and other lipid excipient-based therapeutic products: prediction and prevention*. *Adv Drug Deliv Rev* 2011; 63:1020-30.
- [12] Dobrovolskaia MA, et al. *Understanding the Correlation Between in Vitro and in Vivo Immunotoxicity Tests for Nanomedicines*. *J Control Rel* 2013; 172: 456-466.
- [13] Dobrovolskaia MA. *Pre-clinical immunotoxicity studies of nanotechnology-formulated drugs: Challenges, considerations and strategy*. *J Control Rel* 2015; 220: 571-583.
- [14] Crommelin, DJ et al. *The similarity question for biologicals and non-biological complex drugs*. *Eur J Pharm* 2015; 76: 10-17.
- [15] Dobrovolskaia MA, Neun BW, Clogston JD, Ding H, Ljubimova J, McNeil SE. *Ambiguities in applying traditional Limulus Amoebocyte Lysate tests to quantify endotoxin in nanoparticle formulations*. *Nanomedicine (London, England)*, 2010; 5(4): 555-562.

EL OBSERVATORIO ANMAT Y LA CIENCIA REGULADORA: SABER DÓNDE SE QUIERE IR...

ANMAT OBSERVATORY AND REGULATORY SCIENCE: TO KNOW WHERE WE WANT TO GO...

María S. Navarre, Nora M. Paradiuk, Débora C. Rozitchner, Andrea S. Induni, Karina Balbuena

Observatorio ANMAT. Coordinación de Capacitación e Investigación Científico-Sanitaria. Dirección de Recursos Humanos y Organización. Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica.

Contacto: observatorio@anmat.gov.ar

Palabras claves: gestión democrática, toma de decisiones, salud pública, diagnóstico, instrumento de gestión, información confiable y oportuna

Keywords: democratic management, decision making, public health, diagnosis, management tool, reliable and timely information

- ¿Podrías decirme, por favor, qué camino debo tomar desde aquí?
 - Eso depende, en gran medida, de a dónde quieras ir, dijo el Gato.
 - Eso no me importa mucho, dijo Alicia.
 - Entonces no tienes problema con el camino que sigas, dijo el Gato.
 - ...con tal de que llegue a alguna parte..., añadió Alicia como justificación.
 - Oh, seguro que lo harás, dijo el Gato, con tal de que caminos lo bastante.
- Las Aventuras de Alicia en el País de las Maravillas, Lewis Carroll, 1865.

En un tiempo signado por el cambio, la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), con permanente voluntad de superación, renueva su compromiso con el cuidado de la salud pública y el acceso a productos seguros, eficaces y de calidad. Como parte de esta estrategia, se concibe el Observatorio ANMAT como la herramienta institucional para generar información que contribuya a la acción y a la toma de decisiones en el ámbito de la Ciencia Reguladora.

Un observatorio es un instrumento desde el cual se investigan y registran objetos, eventos y situaciones de carácter natural o social; los primeros fueron creados para observar fenómenos astronómicos o atmosféricos, pero durante la segunda parte del siglo XX han surgido múltiples instituciones dedicadas a diversas áreas sociales que han adoptado el nombre de observatorios. Éstos se constituyen como centros de información, monitoreo, análisis y evaluación, asesoramiento y apoyo a la gestión, comunicación y transferencia de conocimientos para responder adecuadamente a los desafíos que representan los cambios socio-culturales y así orientar los recursos humanos, físicos y financieros hacia las necesidades detectadas.

Los observatorios en el área de la Salud, como instrumento de gestión del conocimiento, pueden presentar diversos enfoques: monitoreo de dispensa y precios de medicamentos, accesibilidad y derechos en salud, políticas sanitarias, información epidemiológica y vigilancia, o bien recursos humanos en salud, siempre dependiendo de la impronta de la institución a la que pertenecen. Esta tarea se ve facilitada con el desarrollo de nuevas

tecnologías de la información y la comunicación. En su mayoría tienen alcance nacional o local, siendo escasos los que integran redes regionales o internacionales.

En la década del setenta surge un nuevo concepto en salud, la "Nueva salud pública"^[1,2], el cual integra no sólo los aspectos psicofísicos sino también los sociales y los estilos de vida de las poblaciones. De ahí la importancia de implementar políticas públicas basadas en la evidencia, provenientes del análisis, el debate interdisciplinario y acciones comunitarias e intersectoriales. Esta nueva idea fue el puntapié inicial para el nacimiento de los primeros Observatorios de Salud en Europa, como el *Observatoire Regional de la Santé d'Ile de France*, los cuales no tardaron en multiplicarse en otros continentes. A modo de ejemplo, el Observatorio de la Organización Mundial de la Salud recoge, elabora y publica datos sobre la situación actual y las tendencias sobre los temas de salud prioritarios, a través de informes breves sobre los principales indicadores sanitarios y sus progresos mediante la compilación de estadísticas anuales.

Según lo indicado por la *Association of Public Health Observatories*, red de observatorios de salud pública de Reino Unido e Irlanda: "La función de un Observatorio de Salud Pública es dar a las organizaciones sociales y de salud que están a la vanguardia, así como a los decisores de políticas sanitarias, la información y evidencia necesaria para tomar las mejores decisiones para la salud de la población y reducir las desigualdades en salud"^[3].

En Argentina se destacan el Observatorio Federal de Recursos Humanos de Salud (OFERHUS), el Observatorio Argentino de Drogas (SEDRONAR), los Observatorios de Salud Pública dependientes de Universidades Nacionales Regionales o de Asociaciones Profesionales, y el Observatorio ANMAT. Este último, creado mediante Disposición 907/11^[4], es la herramienta institucional que acerca y fortalece la relación entre esta Administración y actores institucionales relevantes del ámbito de la salud. En sus labores busca generar la información confiable y oportuna que permita establecer diagnósticos de la situación nacional e internacional sobre los productos y procesos que son competencia de este organismo, con el objetivo de

orientar la toma de decisiones y fortalecer la gestión, en el marco de la Ciencia Reguladora, que se convierte así en paradigma y fundamento. Surge en respuesta a la necesidad institucional de conocer el estado actual de situación desde la visión e interpretación de los actores sociales involucrados, directamente desde sus actividades cotidianas, en prácticas inherentes a la salud y a las competencias de este organismo. Es una iniciativa generada en un modelo de gestión proactivo, es decir que busca trabajar anticipadamente en la identificación de potenciales situaciones conflictivas, fortaleciendo las capacidades de planificación del organismo y la resolución de éstas en forma plural y participativa.

El proceso de generación de información del Observatorio ANMAT se caracteriza por ser dinámico, colectivo, integral y consensado, fundamentado en el modelo de gestión democrático y de intercambio que identifica a la Institución; el producto resultante, es el insumo necesario para el diseño, elaboración, análisis, implementación y evaluación de políticas públicas orientadas a la salud y el bienestar de la población.

La metodología de trabajo consiste, en primera instancia, en el análisis de la información adquirida a partir de fuentes primarias, es decir, directamente de los actores involucrados con los productos y/o procesos que regula la ANMAT.

Para ello, se realizan foros de diagnóstico participativo y reuniones con especialistas y académicos de asociaciones y sociedades de profesionales, asociaciones civiles, universidades y hospitales (públicos y privados), centros de investigación (CONICET, CEPROCOR, otros) y ONGs, entre otras, los cuales son estratégicamente seleccionados y convocados en función de las demandas internas de la institución. Estas actividades se llevan a cabo con un criterio científico, técnico y académico, en relación directa con los postulados de la Ciencia Reguladora y permiten identificar las necesidades, inquietudes y demandas en relación con las funciones de este organismo, promoviendo el trabajo interinstitucional, y la construcción de alianzas estratégicas plurales e integradoras.

Los principales objetivos perseguidos por el Observatorio ANMAT son:

- * identificar problemáticas que afectan sanitariamente a la población y proponer políticas públicas que den respuesta a las necesidades identificadas.
- * conocer la realidad según la visión y la experiencia de los distintos actores e instituciones involucrados en el proceso de la salud
- * generar información útil, actualizada, confiable y oportuna para orientar acciones y fortalecer la toma de decisiones.
- * establecer mecanismos de colaboración y cooperación articulando acciones y esfuerzos con actores relevantes.
- * generar acciones innovadoras que modifiquen la realidad sobre situaciones complejas o deficitarias para la salud de la población.
- * estar a la vanguardia de los avances técnico-científicos en el ámbito de la salud a fin de contar con recursos innovadores que permitan el abordaje de las posibles problemáticas sanitarias.

En el marco del festejo de los 25 años de la ANMAT, cuyo lema fue “La salud como propósito, ciencia reguladora como estrategia”, los espacios del Observatorio dieron la oportunidad de mensurar su trayectoria y alcance a través de las conclusiones de las mesas redondas constituidas por profesionales de esta Administración, miembros de Sociedades Científicas, Universidades, Hospitales y Asociaciones de pacientes.

En base a los nuevos lineamientos planteados por la Organización Panamericana de la Salud (OPS)^[5] en relación con la necesidad de abordar las inequidades en salud con un enfoque más amplio, se han promovido nuevas estrategias orientadas a investigar los determinantes sociales de la salud e influir en ellos. En tal sentido, el Observatorio ANMAT proyecta continuar sus actividades y ampliar sus funciones de acuerdo a las problemáticas identificadas por la Ciencia Reguladora y definidos como estratégicos por esta Administración.

Retomando el diálogo inicial entre Alicia y el Gato de Cheshire, en el que la diferencia entre llegar a un sitio o no hacerlo, es saber dónde se quiere ir, el Observatorio ANMAT constituye, desde su creación una estrategia institucional novedosa porque no se circunscribe a nada conocido ni a fórmulas preelaboradas, sino que responde al aquí y ahora institucional, resultando así en la herramienta de que dispone esta Administración, para generar información basada en la evidencia sobre la que se fundamenta la Ciencia Reguladora; siendo además, un espacio irremplazable de acercamiento entre la ANMAT y otras instituciones científico, académicas y técnicas, con las que se afianza el vínculo de respeto y confianza recíproco, ya establecido.

Es nuestra misión y compromiso, como Observatorio ANMAT, dar continuidad al trabajo ya establecido y plantear nuevas metas e inquietudes para anticiparnos a futuros desafíos sanitarios, a la vez que consolidamos la labor realizada, porque lo importante es que sabemos dónde queremos ir.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Ávila Agüero, ML. Hacia una nueva Salud Pública: Determinantes de la Salud. SciELO. 2009 (consulta: enero, 2018). Editorial de la Ministra de Salud. Costa Rica. Acta méd. Costarric vol.51 n.2. *On-line versión* ISSN 0001-6012. Disponible en: <http://www.scielo.sa.cr/pdf/amc/v51n2/art02v51n2.pdf>
- [2] Vega Franco, L. La salud en el contexto de la nueva salud pública. SciELO (*Scientific Electronic Library Online*). 2000 (consulta: enero, 2018). Washington, D.C. Disponible en: https://www.scielosp.org/scielo.php?pid=S1020-4989200001100016&script=sci_arttext&lng=es
- [3] Jacobson, B. & Castillo Salgado, C. *Providing health intelligence to meet local needs A practical guide to serving local and urban communities through public health observatories*. World Health Organization. 2014 (consulta: enero, 2018). (Kobe, Japan). Disponible en: https://saludcomunitaria.files.wordpress.com/2015/05/9789241508162_eng.pdf
- [4] Disposición ANMAT 907/11 del 7 de febrero, de Aprobación Observatorio ANMAT, la Republica de Argentina. (Expediente N° 1-0047-24322-10-1). Disponible en: www.anmat.gov.ar/boletin_anmat/febrero_2011/Dispo_0907-11.pdf
- [5] Organización Panamericana de la Salud. La OPS incorporó a los determinantes sociales de la salud en su Plan Estratégico 2014-2019. 2013 (consulta: enero, 2018). Disponible en: http://www.msal.gob.ar/determinantes/index.php?option=com_content&view=article&id=343:nuevo-sitio-web-para-residencias&catid=6:destacados-slide343
- [6] Ramos, A. Aniversario, trabajo y orgullo Garrahan y ANMAT. Septiembre 2017 (consulta: enero, 2018). Revista de la Secretaría de Políticas, Regulación e Institutos (PREIn). Revista N°5 - pág 3.
- [7] Organización Mundial de la Salud. Datos del Observatorio Mundial de la Salud. 2018. Consulta: enero, 2018. Disponible en: <http://www.who.int/gho/database/es/>

LA COMISIÓN DE PRODUCTOS PARA LA SALUD. MARCO, MISIÓN Y ESTADO DE LA CONVERGENCIA REGULATORIA DE LOS ESTADOS PARTE DEL MERCOSUR.

THE HEALTH PRODUCTS COMMISSION. Framework, mission and state of the regulatory convergence of the MERCOSUR Member States.

Marcelo A. Maito^a, Valeria T. Garay^b

^a*Coordinación de Capacitación e Investigación Científico-Sanitaria. Dirección de Recursos Humanos y Organización. Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica.*

^b*Dirección de Relaciones Institucionales y Regulación Publicitaria. Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica.*

Contacto: mmaito@anmat.gov.ar

RESUMEN

El presente trabajo describe una breve contextualización del Mercosur y de la Comisión de Productos de la Salud (COPROSAL) del Subgrupo de Trabajo (SGT) N° 11, y caracteriza el estado actual de la Convergencia Regulatoria de la COPROSAL tomando como indicador la normativa aprobada por el Grupo Mercado Común (GMC) e implementada entre los Estados Partes.

Palabras claves: Mercosur, salud, convergencia, COPROSAL

Key words: Mercosur, health, convergence, COPROSAL

1. INTRODUCCIÓN

El 30 de noviembre 1985 los presidentes de Argentina y Brasil, Raúl Alfonsín y José Sarney, firmaron la declaración de Iguazú mediante la cual establecieron, entre otras cosas, la creación de la Comisión Mixta de alto nivel de cooperación e integración económica bilateral, presidida por los Ministros de Relaciones Exteriores e integrada por representantes gubernamentales y de sectores empresarios de ambos países. Al año siguiente se firmó un nuevo Acuerdo, el "Programa para la Integración Argentino-Brasileña", que tuvo por objetivo propiciar un espacio económico común, abrir los mercados y estimular la complementación productiva en nuevas condiciones de competencia. Mediante estos acuerdos se establecieron posiciones comunes respecto de los temas de importancia regional, y se inició un programa cuya meta consistió en el establecimiento de un espacio económico común entre ambos países. Posteriormente el presidente uruguayo, Julio María Sanguinetti, expresaría el interés y la intención de la República del Uruguay por sumarse al proceso de integración. La República de Paraguay seguiría el mismo camino.

El 26 de marzo de 1991 se firmó el tratado de Asunción entre los cuatro

países y adoptó el nombre de Mercado Común del Sur (Mercosur). Este tratado definió la estructura institucional básica y estableció las bases del libre comercio, la política comercial y el arancel externo común, la coordinación de políticas macroeconómicas y sectoriales, y la armonización de las legislaciones en las áreas pertinentes. En 1994 se firmó el Protocolo de Ouro Preto mediante el cual se complementó el tratado de Asunción, formalizando y consolidando su estructura, y se puso en marcha el mecanismo de integración.

En la Actualidad el Mercosur está compuesto por los Estados Partes (los países miembros son denominados de esta manera) fundadores y los Estados Partes que se adhieron posteriormente, Venezuela y Bolivia (en proceso de adhesión). Adicionalmente existen los Estados Asociados, como son los casos de Chile, Colombia, Ecuador, Perú, Guyana y Surinam, los cuales no tienen derecho a voto. La Participación de los Estados Asociados en las reuniones puede darse por invitación de los Estados Parte del Mercosur o como respuesta a la solicitud del Estado Asociado.

La estructura del MERCOSUR

Los órganos más importantes del MERCOSUR son los que cuentan con capacidad decisoria, el Consejo Mercado Común (CMC), el Grupo Mercado Común (GMC), y la Comisión de Comercio del Mercosur (CCM).

El CMC es el órgano superior del Mercosur y el encargado de conducir políticamente el proceso de integración tomando decisiones para cumplir con los objetivos establecidos por el tratado de Asunción. Está integrado por los Ministros de Relaciones Exteriores y los Ministros de Economía de los Estados Partes. El CMC se pronuncia mediante decisiones, las cuales son de carácter obligatorio para los Estados Partes.

El GMC es el órgano ejecutivo del Mercosur y es coordinado por los Ministerios de Relaciones Exteriores. Está integrado por cuatro miembros

titulares y cuatro miembros alternos de cada país, designados por los respectivos gobiernos, y que deben pertenecer obligatoriamente a los Ministerios de Relaciones Exteriores, a los Ministerios de Economía y a los Bancos Centrales. El GMC se pronuncia mediante Resoluciones, las cuales son obligatorias para los Estados Partes.

La CCM vela por la aplicación de los instrumentos de la política comercial común acordados por los Estados Partes para el funcionamiento de la unión aduanera. También realiza el seguimiento y revisa los temas y materias relacionados con las políticas comerciales comunes, con el comercio intra-Mercosur y con terceros países. La CCM se pronuncia mediante Directivas o Propuestas. Las Directivas son de carácter obligatorio para los Estados Partes. Las Decisiones, Resoluciones, Directivas y Propuestas de estos tres órganos surgen de las reuniones especializadas que se realizan por intermedio de los grupos y subgrupos de trabajo que los integran. En el marco de sus competencias y en la órbita del GMC, la ANMAT participa activamente de los Subgrupos de Trabajo (SGT) N°3 – reglamentos técnicos y evaluación de la conformidad- y N°11 – Salud-. El último está conformado por tres comisiones: la Comisión de Vigilancia en Salud (COVISAL), la Comisión de Servicios de Atención en Salud (COSERATS) y la Comisión de Productos Para la Salud (COPROSAL) en la cual ANMAT es el organismo coordinador de Argentina. A su vez, los tres grupos son coordinados por el Ministerio de Salud de la Nación. Las tareas generales, las pautas de acción, los propósitos y temas de cada grupo de trabajo que conforma el SGT N°11 se encuentran en la pauta negociadora (Res GMC N° 13/07).

En la **Figura 1** se puede observar cómo se inserta la COPROSAL y sus Subcomisiones de trabajo en la estructura institucional del GMC y del SGT N°11 -Salud.

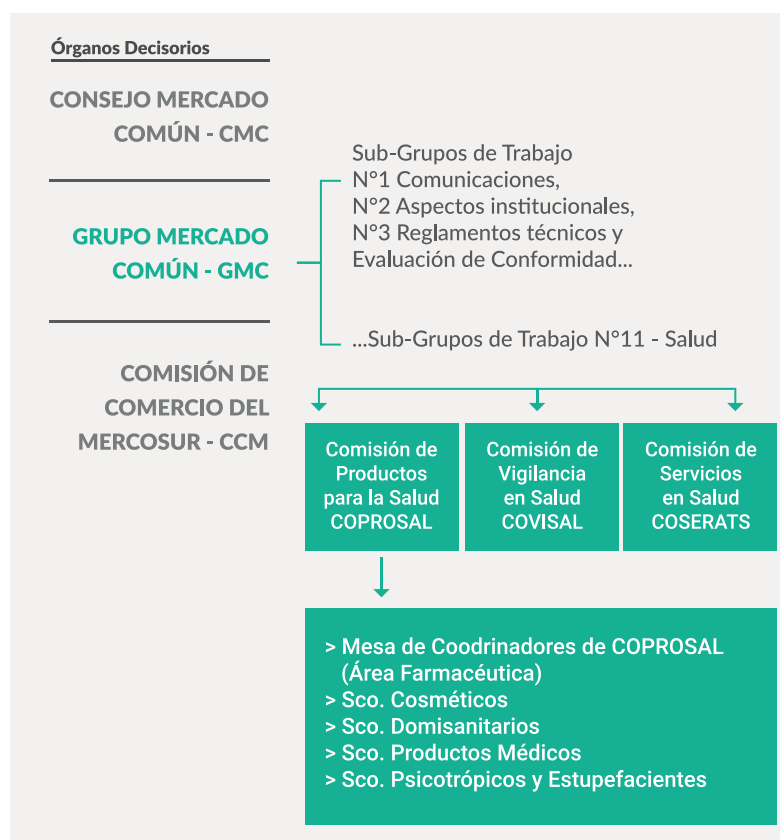


Figura 1: La COPROSAL en la estructura del Mercosur.

La Comisión de Productos Para la Salud

El propósito central de la Comisión de Productos para la Salud es la armonización de los reglamentos técnicos y procedimientos aplicables desde el inicio de la cadena de producción hasta el consumo de productos bajo el régimen de vigilancia sanitaria. Sus actividades tienden a la mejora de la calidad, eficacia y seguridad de los productos ofertados a la población, a la promoción de la salud y al gerenciamiento de los riesgos a la salud eliminando, al mismo tiempo, los obstáculos injustificados al comercio regional.

La coordinación de la Comisión tiene una duración semestral, alternándose entre los Estados Partes por orden alfabético. Se realizan dos reuniones presenciales al año, en donde se trabajan los temas mediante Documentos de Trabajo. Una vez que estos documentos son consensuados por todos los representantes de los Estados Parte, se convierten en Proyectos de Resolución. Los mismos son elevados en las reuniones presenciales al GMC para su consulta interna en los Estados Partes (DEC CMC N° 20/02). Este proceso de Consulta Interna se hace de manera formal mediante expediente, en el cual se analiza la conveniencia técnica y jurídica del proyecto, y se pone en conocimiento a los sectores regulados e interesados en la normativa para que puedan expresar sus opiniones sobre los textos, las cuales en ningún caso resultan vinculantes para la autoridad competente. Finalizado este proceso, los comentarios recibidos son tratados nuevamente en la comisión y debe llegarse a consenso nuevamente. Una vez que se logra el consenso, el Proyecto de Resolución se eleva para la aprobación del GMC. Una vez aprobado por el GMC, se transforma en Resolución GMC. Ésta debe ser incorporado por los Estados Partes de forma obligatoria, de manera textual, mediante los mecanismos administrativos previstos (Artículo 15 del Protocolo Ouro Preto y Decisiones CMC N°23/00 y N°20/02). Existen también Resoluciones que regulan la estructura y el funcionamiento del Mercosur, las cuales también son de carácter obligatorio para los Estados Partes, pero no deben ser incorporadas a sus Ordenamientos Jurídicos Nacionales -OJN.

La Comisión decide la conformación y la disolución de las subcomisiones que la componen (anteriormente denominados Grupos Ad Hoc -GAH-). También tiene la autoridad para convocar a Grupos Ad Hoc (anteriormente denominados Grupos de Trabajo -GT-) los cuales deben tener un mandato específico para trabajar sobre un tema regulatorio puntual con el resultado de un documento consensuado. La composición de las comisiones del SGT N°11 (Salud), sus misiones y funciones se encuentran en la "Pauta Negociadora", (Documento de Trabajo) DT N°17/14. Anteriormente se aprobaba una Res GMC bajo el nombre de "Pauta Negociadora" (la última aprobada fue la Res GMC N°13/07). Esta modalidad ha sido cambiada por indicación del GMC debiéndose actualizar los contenidos de la pauta negociadora mediante el citado DT que se encuentra en las actas de los Coordinadores Nacionales del SGT N°11.

Estado actual de la convergencia regulatoria en la COPROSAL

El proceso de integración regional en el marco de la COPROSAL se funda en el paradigma de la Convergencia Regulatoria. Este paradigma implica el reconocimiento de la necesidad de establecer sistemas de reglamentación sanitaria en base al diálogo constructivo entre las autoridades competentes y otros grupos de interés, asumiendo la existencia de objetivos compartidos que deben ser alcanzados respetando la diversidad de las necesidades regionales de los distintos países, de sus sistemas sanitarios y principalmente

de las comunidades que los componen. Es decir, existe una coincidencia de objetivos compartidos entre los Estados, pero con el conocimiento de que los mecanismos y caminos necesarios para alcanzar los objetivos pueden ser diferentes de acuerdo a las necesidades y capacidades efectivas.

En este marco y dependiendo de los temas a los que se aplican las diferentes reglamentaciones, la COPROSAL ha desarrollado un *corpus* normativo, aprobado por el GMC, sobre diferentes temas vinculados a los productos de la salud que se pueden agrupar por las siguientes áreas de trabajo: Farmacéutica, Cosméticos, Domisanitarios, Productos Médicos y Psicotrópicos (y Estupefacientes)¹.

Como primera instancia empezaremos observando la evolución de la incorporación de las Resoluciones GMC de la comisión a los OJN de los Estados Partes, mediante la comparación del estado de situación de dos momentos específicos, noviembre de 2011 y noviembre de 2017 (Tabla 1). Es necesario aclarar dos cuestiones. En primer lugar, según lo establecido por el artículo 40° del Protocolo Ouro Preto, las normas MERCOSUR se consideran implementadas una vez que todos los Estados Partes realizaron la incorporación de la normativa a su Ordenamiento Jurídico Nacional (OJN). Por lo tanto, para que una norma se considere implementada debe ser incorporado por todos los Estados Partes. En segundo lugar, Venezuela ha sido excluida del análisis por razones de comparabilidad dado que no era un Estado Parte del Mercosur en 2011. Por otra parte, al momento de realización de este trabajo se encuentra suspendida de manera indefinida por la aplicación de la cláusula democrática del Protocolo de Ushuaia, lo cual impide su participación en el bloque desde el año 2017.

Tabla 1. Incorporación de Resoluciones GMC por país. N=122 N=141

Noviembre de 2011			Noviembre de 2017		
Estados Partes	Incorporaciones realizadas		Estados Partes	Incorporaciones realizadas	
	N°	%		N°	%
Argentina	111	90,9	Argentina	130	92,2
Brasil	104	85,2	Brasil	128	90,8
Paraguay	108	88,5	Paraguay	119	84,4
Uruguay	92	75,4	Uruguay	118	83,7

Elaboración propia con base a información de la Coordinación Nacional del SGT N°11

Hasta noviembre año 2011 existían 122 Resoluciones Mercosur que debían ser incorporadas por los mecanismos administrativos de los Estados Partes. Para el mismo mes del año 2017 existían 141. Del total de 152 Resoluciones GMC de la COPROSAL, 11 no deben ser incorporadas porque reglamentan el funcionamiento de distintos aspectos de la Comisión.

Podemos ver que la cantidad de incorporaciones realizadas ha aumentado como proporción del total, en todos los países con excepción del caso de Paraguay. Este caso se explica por la suspensión impuesta sobre el país en el año 2012, la cual tuvo una duración formal de trece meses. Sin embargo, comparando a todos los Estados Parte de forma agregada en los dos momentos elegidos (noviembre de 2011 y de 2017), la cantidad

de incorporaciones realizadas por los Estados Partes del bloque aumentó en un 2,8%, mientras que la cantidad de Resoluciones de la Comisión que requieren internalización pasó de 122 a 141, un 13,5% más que en 2011. La República del Uruguay registra el incremento más sensible pasando del 75,4% al 83,7% de resoluciones incorporadas.

Respecto de la implementación, la vigencia efectiva de las mismas normativas en los Estados Partes del bloque, se presentan a continuación los datos relativos a los años 2011 y 2017 (Tablas 2 y 3). Estos cuadros agrupan la información por área y Subcomisión de trabajo.

Tabla 2: Incorporación de Resoluciones GMC por Subcomisión de la Coprosal (2011).

Noviembre de 2011			
Área \ Resoluciones	TOTAL	Implementadas	% de implementación
Farmacéutica	27	21	77,8
Cosméticos	36	26	72,2
Domisanitarios	23	10	43,5
P. Médicos	15	9	60,0
Psicotrópicos	21	14	66,7
TOTAL	122	80	65,6

Elaboración propia con base a información de la Coordinación Nacional del SGT N° 11

En el año 2017, se observa que el área con mayor nivel de implementación es la de cosméticos con un 80,5% de las resoluciones implementadas (33 resoluciones), mientras que el área con menor nivel de implementación es la de productos Médicos con un 63,6% (14 resoluciones). Respecto del año 2011 existe una mayor implementación del total de las resoluciones de la comisión de alrededor del 8%, siendo para el año 2011 del 65,6% y para el 2017 del 73,7%.

Tabla 3: Incorporación de Resoluciones GMC por Subcomisión de la Coprosal (2017)

Noviembre de 2017			
Área \ Resoluciones	TOTAL	Implementadas	% de implementación
Farmacéutica	39	30	76,9
Cosméticos	41	33	80,5
Domisanitarios	25	16	64,0
P. Médicos	22	14	63,6
Psicotrópicos	25	19	76,0
TOTAL	152	112	73,7

Elaboración propia con base a información de la Coordinación Nacional del SGT N° 11

Quizás el lector se pregunte ¿Por qué si la internalización de las Resoluciones GMC es obligatoria para los Estados Partes hay algunas de ellas que no han sido internalizadas? Existen diversas situaciones que contribuyen a que esto ocurra. Los dos más frecuentes son, en primer lugar, la existencia de los tiempos administrativos necesarios para incorporar las Resoluciones GMC al OJN. Por otra parte, situaciones específicas en las

1. Se ha excluido del informe el trabajo de la subcomisión de Farmacopea (ex Grupo Ad Hoc Farmacopea), creada en el año 2014.

cuales los trámites administrativos que deben originarse para incorporar las nuevas Resoluciones GMC, Resoluciones Ministeriales o Decisiones Administrativas, no tienen la jerarquía jurídica necesaria para derogar la normativa que debe reemplazarse cuando ésta última fue internalizado mediante instrumentos jurídicos de órganos superiores de gobierno como Leyes y Decretos.

Finalmente, se puede observar que de las 40 Resoluciones que no están implementadas, 20 fueron incorporadas por tres Estados Partes, 17 fueron incorporadas por dos Estados Partes, 2 por un Estado Parte y 1 por ninguno. Por otro lado, hay 112 Resoluciones GMC implementadas de las cuales 101 requirieron actos administrativos de incorporación de los Estados partes (Tabla 4).

Tabla 4: Resoluciones GMC en Proceso de Incorporación (No Implementadas).

COPROSAL	Incorpo- radas por 3 EP	Incorpo- radas por 2 EP	Incorpo- radas por 1 EP	Incorpo- radas por 0 EP	TOTAL
Área	Nº	Nº	Nº	Nº	Nº
Farmacéutica	2	7	0	0	9
Cosméticos	6	2	0	0	8
Domisanitarios	5	4	0	0	9
P. Médicos	2	5	1	0	8
Psicotrópicos	2	2	1	1	6
TOTAL	17	20	2	1	40
Elaboración propia con base a información de la Coordinación Nacional del SGT Nº 11					

2. BREVES CONCLUSIONES

En los últimos seis años el Mercosur ha atravesado dos crisis institucionales importantes. Ha suspendido en dos oportunidades a miembros plenos por la ejecución de la cláusula democrática del protocolo de Ushuaia. A pesar de las diversas implicancias que estas situaciones tuvieron y tienen para la continuación de los trabajos de los Estados Partes, la COPROSAL ha mantenido su nivel de actividad, e incluso ha mejorado su efectividad en lo que respecta al proceso de aprobación, internalización e implementación de reglamentos Mercosur. Como se pudo observar en las páginas anteriores, logró una mejora de implementación del orden del 8%. Esta mejora, aún con los períodos adversos descritos más arriba, se explica por la maduración y la experiencia de la COPROSAL en la negociación de reglamentos Mercosur, y por el paradigma de la convergencia que permite consensuar objetivos comunes respetando las diferentes necesidades de las poblaciones y los actores involucrados.

3. BIBLIOGRAFÍA

Ley 23981/1991 del 15 de agosto, de Aprobación del Tratado suscrito para la Constitución de un Mercado Común entre las Repúblicas Argentina, Federativa del Brasil, Paraguay y Oriental del Uruguay. (Boletín Oficial de la República Argentina Nº 27218 del 12/09/1991).

Ley 24.560/1995 del 20 de septiembre, de Aprobación del Protocolo Adicional al Tratado de Asunción sobre la Estructura Institucional del Mercosur - Protocolo de Ouro Preto, suscrito el 17.12.94. (Boletín Oficial de la República Argentina Nº 28249 del 13/10/1995)

Ley 25.133/1999 del 4 de agosto, de Aprobación del Protocolo de Ushuaia sobre el Compromiso Democrático en el Mercosur, la República de Bolivia y la República de Chile. (Boletín Oficial de la República Argentina Nº 29230 del 15/09/1999).

Mercosur, CMC, Decisión Nº 23/2000, Relanzamiento del Mercosur e Incorporación de la Normativa Mercosur al Ordenamiento Jurídico de los Estados Partes.

Mercosur, CMC, Decisión Nº 20/2002, Perfeccionamiento del Sistema de Incorporación de la Normativa Mercosur al Ordenamiento Jurídico de los Estados Partes.

Mercosur, GMC, Resolución Nº 13/2007, Pauta Negociadora del SGT Nº 11 "SALUD" (Derogación de la Res. GMC Nº 06/05).