

## **SITUACIÓN ACTUAL DE MEDICAMENTOS ELABORADOS A BASE DE MICROORGANISMOS UTILIZADOS EN INMUNOTERAPIA BACTERIANA:**

### **RELEVAMIENTO DE RESULTADOS OBTENIDOS EN PLAN DE FISCALIZACIÓN**

DÍAZ, N; ALETTI, S; LOPEZ DE VOLDER, M.A; GELMI, L; APREA, P; CHIALE, C.

Díaz Natalia, [ndiaz@anmat.gov.ar](mailto:ndiaz@anmat.gov.ar), 4-340-0800 Interno 2654

Instituto Nacional de Medicamentos. Av. Caseros 2161 - Ciudad Autónoma de Buenos Aires

### **LISTADO DE ABREVIACIONES**

ATCC: American Type Culture Collection; ANMAT: Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica; ELISA: enzoinmunoanálisis, IFAs: Ingredientes Farmacéuticos Activos; IgE: Inmunoglobulina E; INAME: Instituto Nacional de Medicamentos; IL-2: Interleuquina 2; LTh1: Linfocitos T helper 1; LTh2: Linfocitos T helper 2; OMS: Organización Mundial de la Salud; DO: densidad óptica. PCR: reacción en cadena de polimerasa. UV: ultravioleta

### **INTRODUCCIÓN**

Desde las décadas de los 70 y de los 80 han sido desarrollados diferentes tipos de medicamentos sobre la base de las propiedades inmunoestimulantes o inmunomoduladoras de suspensiones o lisados bacterianos, extractos de paredes bacterianas, ribosomas y proteoglicanos bacterianos.

Desde entonces han sido muchos los estudios clínicos conducidos para demostrar la eficacia y seguridad de estos productos en particular en el tratamiento de infecciones respiratorias altas y bajas recurrentes, así también como en la terapéutica y prevención de infecciones recurrentes del tracto urinario. Algunos estudios han sido focalizados en demostrar la aplicación de la inmunomodulación con extractos bacterianos en patologías donde se produce una alteración de la regulación inmune por un desbalance del sistema como ocurre en la enfermedad alérgica. Muchos de estos productos han sido sometidos a procesos de evaluación por Autoridades Reguladoras de Medicamentos habiendo logrado obtener la autorización de comercialización correspondiente como especialidades medicinales en diferentes países.

Actualmente, los medicamentos a base de microorganismos utilizados en inmunoterapia bacteriana se encuentran disponibles bajo dos formas: 1- Productos elaborados por productores de productos alérgicos bajo la categoría de vacunas individualizadas para inmunoterapia bacteriana, para un determinado paciente y a partir de una prescripción médica; y 2- Especialidades medicinales con registro sanitario emitido por ANMAT, elaboradas o importadas por laboratorios de especialidades medicinales, bajo una fórmula cuali-cuantitativa, forma farmacéutica e indicaciones de uso y acción terapéutica definidas al momento de la obtención de su autorización de comercialización. En ambos casos, la elaboración de estos productos comprende procesos con una gran variabilidad inherente y con diferentes impurezas relacionadas. La heterogeneidad de los procesos de manufactura requieren que los controles en proceso sean robustos y que los procesos de producción sean realizados en forma tal de asegurar la calidad del producto y la uniformidad en su composición cuali y cuantitativa. Es importante que todas las actividades sean encaminadas para asegurar que los consumidores y pacientes reciban un producto que cumpla con las especificaciones y estándares de calidad, inocuidad y eficacia establecidos. En este contexto, se plantea el desarrollo de un Plan de Fiscalización abarcativo a todos los establecimientos y laboratorios farmacéuticos elaboradores y/o importadores de estos medicamentos a los fines de relevar, evaluar y establecer criterios en cuanto a los procesos de manufactura y control inherentes a estos productos.

### **OBJETIVO**

Evaluar la situación actual de los medicamentos utilizados en inmunoterapia bacteriana respecto a los nuevos requerimientos de la reglamentación vigente aplicable a productos de origen biológico. En base a la información reunida, indicar por una lado a los productores e importadores la implementación de los ajustes necesarios para la adecuación de sus procesos y especificaciones en base a un cronograma definido, y por otro lado incluir y reforzar en las guías y documentos que se encuentran actualmente en desarrollo aquellos aspectos que por su criticidad así lo ameriten todo ello para dejar establecidas especificaciones y criterios uniformes actualizados para la producción y control de estos medicamentos independientemente de su categoría de especialidades medicinales o vacunas individualizadas.

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

El estudio comprende la colecta de información relacionada con especificaciones, métodos de producción y control y del status regulatorio de los medicamentos utilizados en inmunoterapia bacteriana, así también como la vinculada a las características de los materiales de partida utilizados en la producción de los mismos, de los procesos productivos involucrados y de los métodos para su control, todo ello dentro del contexto del Programa de Fiscalización de la ANMAT correspondiente al año 2013. La planificación de las verificaciones abarca los establecimientos habilitados por la ANMAT para la producción y/o importación de vacunas bacterianas individualizadas y los productores y/o importadores de especialidades medicinales objeto del presente estudio.

La base de datos de la ANMAT constituye la fuente de información para la confección del listado de establecimientos a fiscalizar (total 15 elaboradores y/o importadores de especialidades medicinales y 3 elaboradores de productos alérgicos) y de los productos registrados a controlar (total de 45 productos, 13 de elaboración nacional y 32 productos importados de países considerados de alta vigilancia sanitaria). Considerando los aspectos relacionados al aseguramiento de la calidad y seguridad de estos productos, así como las características intrínsecas que conllevan su elaboración, el Plan de Fiscalización ha sido focalizado en el proceso de obtención y control de las suspensiones bacterianas e IFAs a partir de las cepas de origen utilizadas y respecto al producto terminado a las especialidades medicinales autorizadas y registradas, evaluándose:

a) Cepas de microorganismos

a.1. Origen de las cepas, a.2. Controles de calidad, a.3. Generación y mantenimiento del cepario  
a.4. Registros y Procedimientos

b) Suspensiones bacterianas e IFAs

b.1. Flujograma de elaboración con puntos críticos, b.2. Registros y controles en proceso durante la elaboración, b.3. Métodos utilizados para la inactivación de los microorganismos, b.4. Especificaciones y controles de calidad para su liberación, b.5. Condiciones de conservación.

c) Producto terminado

c.1. Certificado de autorización de las Especialidades Medicinales, c.2. Modificaciones del Certificado de autorización posteriores al registro del producto, c.3. Flujograma de producción, c.4. IFA de partida para la elaboración. Unidad de medida del IFA para formular el Producto Terminado, c.5. Registros y controles en proceso durante la elaboración, c.6. Especificaciones y Metodología de control de calidad para su liberación, c.7. Rótulos y prospectos aprobados

Complementariamente muestras de suspensiones de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus viridans*, *Micrococcus respiratorius*, *Branhamella catarrhalis* (n= 26) obtenidas durante las verificaciones realizadas se sometieron los siguientes ensayos en los laboratorios del Departamento de Productos biológicos de la ANMAT

Físico-químicos: Aspecto: método visual; Concentración de microorganismos por turbidimetría según escala de Mc Farland a 625 nm; Valoración de fenol por titulación volumétrica

Microbiológicos: Contaminación microbiana por morfología microscópica y tinción de gram

Los resultados obtenidos se contrastaron con los obtenidos en los ensayos realizados por los Establecimientos y Laboratorios relevados.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A partir del relevamiento realizado surgen las siguientes observaciones:

a) Cepas de microorganismos utilizadas para la obtención de los materiales de partida: se pudo verificar el origen de las cepas utilizadas para la obtención de las suspensiones bacterianas e IFAs. Éstas provienen de: 1) colecciones de la American Type Culture Collection (ATCC), adquiridas a través de su distribuidor oficial en Argentina o a partir de Instituciones Nacionales; 2) cepas de la Organización Mundial de la Salud (OMS) obtenidas a través de Instituciones Nacionales; 3) cepas caracterizadas por el Laboratorio titular del registro de la especialidad medicinal; y 4) cepas clínicas caracterizadas por Instituciones Nacionales. Las cepas son recibidas con su correspondiente Certificado de Análisis emitido por el proveedor, y a su recepción se realizan sobre éstas controles para asegurar su calidad a través diferentes técnicas. Sobre este punto se destaca que, mientras que algunos establecimientos conducen ensayos exhaustivos que permiten asegurar la identidad y pureza de la cepa llegándose a tipificar el género y la especie del microorganismo, otros optan por un control reducido en el cual se realizan pruebas para determinar morfología macro/microscópica y familia a la cual pertenece el microorganismo.

A partir de las cepas recibidas, hay laboratorios que han generado un cepario de trabajo propio mediante procedimientos adecuados, bajo condiciones de conservación tales que garanticen la viabilidad de las mismas. En estos casos se pudo constatar la existencia de protocolos para el mantenimiento del mismo que incluyen la realización de ensayos a determinados periodos de tiempo para el control de las cepas conservadas, todo ello a los fines de asegurar su aptitud para ser utilizadas posteriormente como material de partida en las sucesivas elaboraciones. En este punto resulta importante señalar que la mayoría de los establecimientos y laboratorios productores de medicamentos relevados bajo este Programa, no obtienen ni producen en sus propias instalaciones las suspensiones bacterianas e IFAs, sino que esos materiales de partida son obtenidos a partir de distintos proveedores tanto de origen nacional como extranjero. En ese contexto solo uno de los tres establecimientos habilitados para producir productos alérgicos produce suspensiones bacterianas a partir de un cepario propio, y solo dos de los 15 laboratorios farmacéuticos habilitados para elaborar especialidades

medicinales elaboran sus IFAs en sus propias instalaciones. En los demás casos, como señaláramos anteriormente, los IFAs se adquieren tanto de proveedores nacionales como extranjeros.

b) Características de las Suspensiones bacterianas e IFAs: con respecto a este ítem hay que comenzar mencionando los diferentes tipos de IFAs utilizados en la producción de medicamentos a base de microorganismos. En términos generales los establecimientos habilitados para elaborar productos alérgicos utilizan como IFAs suspensiones bacterianas concentradas inactivadas generalmente por tratamiento con fenol. Otra situación revisten los laboratorios farmacéuticos, los cuales parten de diferentes tipos de materiales de partida e IFAs, a saber: 1) suspensiones de microorganismos lisados e inactivados; 2) suspensiones de microorganismos enteros inactivados; 3) polvos liofilizados conteniendo microorganismos inactivados, ya sean enteros o lisados; y 4) polvos liofilizados de organelas o partes de microorganismos (ribosomas, fracción membranosa, glucidolípidos, etc) obtenidas por distintos métodos de purificación. No obstante ello la mayoría de las especialidades medicinales que cuentan con registro sanitario son producidas a partir de suspensiones de microorganismos inactivados, siendo mayormente lisados.

En cuanto al proceso de obtención del IFA, podemos decir que éste involucra varios pasos de elaboración, pudiéndose resumir en los siguientes: preparación del inóculo a partir de las cepas conservadas, fermentación, ruptura de los microorganismos e inactivación. No hay que dejar de lado que los pasos involucrados en el proceso productivo dependerán de cada IFA en particular, pudiéndose también citar entre otros: la centrifugación, diálisis, precipitación, concentración, filtración, purificación y en ciertos casos liofilización. Decíamos que la elaboración de las suspensiones bacterianas que contienen gérmenes lisados e inactivados se inicia con la preparación de un inóculo del microorganismo a partir de la semilla. Para ello se descongelan las cepas y, previo control de las mismas, se crecen en medios adecuados para su propagación. Posteriormente, se realiza el proceso de fermentación del inóculo preparado para originar la cantidad de biomasa requerida. Durante este proceso se realizan los controles necesarios para el seguimiento de la curva de crecimiento, tales como determinación de pH, CO<sub>2</sub>, flujo de aire, densidad óptica (DO), recuento de microorganismos, entre otros. Una vez que el cultivo en crecimiento ha llegado a la fase logarítmica, la fermentación finaliza y se realiza el recuento de microorganismos (viables o totales) por diferentes métodos de acuerdo al procedimiento establecido por cada laboratorio. Esta información es de suma importancia dado que la cantidad de microorganismos determinada en el cultivo obtenido (denominada "concentración") es el valor que se utilizará para formular posteriormente el Producto final, ya sea para inmunoterapia bacteriana individualizada o para una especialidad medicinal. A continuación se realiza el proceso de inactivación, siendo los métodos más utilizados el tratamiento con fenol, tratamiento con formol y/o calor durante 2-3 días a 70°C. Para corroborar que el proceso de inactivación ha sido eficaz, generalmente se realiza el ensayo de esterilidad post-inactivación o en algunos casos se realiza el ensayo para recuento de microorganismos viables. Finalmente, la suspensión microbiana inactivada obtenida se somete a un proceso de lisis, siendo el método más utilizado el ultrasonido, verificándose luego la eficacia del tratamiento por medida de la DO. Una vez que el IFA es obtenido, se realizan sobre éste ensayos para su control de calidad. Generalmente se emite un Certificado de Análisis para su liberación y uso ulterior en la elaboración de los productos finales. Las condiciones de conservación pueden variar de acuerdo al IFA: las suspensiones bacterianas son almacenadas entre 2-8°C, mientras que los IFAs en su estado de polvos y polvos liofilizados se conservan en freezer a -20°C.

Los pasos críticos de la elaboración se realizan bajo flujo laminar, siendo imprescindible contar con una infraestructura adecuada a los fines de evitar la contaminación durante el proceso de obtención de los IFAs. Para el registro de todo el proceso de elaboración, se dispone de guías de fabricación y procedimientos escritos. En algunos casos estos documentos se encuentran más desarrollados que otros, pero es importante que contemplen todas las operaciones que deben ser realizadas y registradas. Respecto a este punto, varios laboratorios han estado trabajando en ello, poniendo en vigencia nuevas versiones de tales guías a partir de las observaciones efectuadas por la ANMAT durante el transcurso de este Plan de Fiscalización. Es importante que estos registros permitan la trazabilidad de las cepas utilizadas para la elaboración del IFA, así como también permitan verificar que los puntos críticos de control se han encontrado dentro de las especificaciones establecidas. A partir de los registros de elaboración, se relevaron problemas en la trazabilidad de las cepas utilizadas en la elaboración del IFA, los que incluyen: falta de registros adecuados, incompatibilidad de fechas, falta de observaciones realizadas durante el proceso ante un eventual desvío, entre otros.

Durante todo el proceso se deben realizar controles de manera de garantizar la robustez del proceso y asegurar la calidad en el Producto final obtenido. Dado la naturaleza del proceso productivo, este punto es de vital importancia ya que una vez que el microorganismo se encuentra inactivado no es posible determinar fehacientemente su identidad y pureza. De ahí que los controles a realizarse durante el proceso de obtención del IFA deben ser lo más exhaustivos posibles, siendo la calidad del mismo la que determinará finalmente la obtención de un producto de calidad y seguridad que cumpla con los requisitos establecidos. Al respecto, en

algunos de los registros evaluados, se observó que determinados controles realizados durante el proceso no contaban con especificaciones establecidas para los mismos. Más aun, en algunos casos se encontraron especificaciones incompatibles o erróneas al proceso, así como también falta de registro de los controles realizados.

Respecto a los controles que deben realizarse sobre los productos intermediarios del proceso y los IFAs, se verificó que éstos son generalmente escasos, realizándose ensayos tales como aspecto, coloración de gram, concentración y esterilidad de acuerdo a procedimientos operativos estandarizados. Sobre los IFAs que se encuentran bajo la forma de polvos o polvos liofilizados se realizan los ensayos de humedad, solubilidad, pH, proteínas, cuantificación de ARN (si el IFA corresponde a liofilizado de ribosomas), entre otros. En ciertos casos se observó que durante todo el proceso de obtención del IFA no se realizan ensayos para determinar la identidad inequívoca del microorganismo, sino que se parte de las cepas llegando al final del proceso con escasos controles para asegurar la calidad del IFA. Por ello es importante, sobre todo en estos casos, partir de cepas controladas y realizar controles a lo largo de todo el proceso de elaboración a los fines asegurar la identidad y pureza del cultivo generado, recordando que una vez que se ha sometido al proceso de inactivación se carece de las herramientas necesarias para corroborar dichas condiciones.

c) Producto Terminado: En este punto nuevamente debemos recordar que, mientras los medicamentos elaborados como especialidades medicinales disponen de un certificado de autorización para su comercialización y registro sanitario ante ANMAT obtenido a partir del proceso de evaluación de un dossier del producto presentado por el laboratorio farmacéutico productor o importador, los medicamentos elaborados bajo la forma de vacuna individualizada no cuentan con dicha certificación puesto que son producidos bajo una prescripción médica específica para un paciente determinado. En estos casos es el proceso productivo el que debe encontrarse autorizado. Hecha esta aclaración podemos decir que a partir de la documentación evaluada durante las fiscalizaciones se verificó que del total de las 45 especialidades medicinales que poseen registro sanitario ante la ANMAT, actualmente sólo se están comercializando 19 de ellas, siendo 11 de producción nacional y 8 importadas. Con respecto a los restantes 26 productos se pudo constatar que 1) 14 de ellos nunca fueron elaborados ni comercializados desde la obtención de su registro, manteniendo sus titulares la vigencia de los mismos. Durante el programa de fiscalización realizado un laboratorio titular de certificados presentó ante ANMAT el trámite para la cancelación y baja del mismo; 2) 12 especialidades medicinales fueron elaborados durante un cierto tiempo y luego se discontinuó su comercialización. En este caso, las causas refirieron a motivos netamente comerciales propios del Laboratorio titular y también a dificultades para encontrar un proveedor adecuado del IFA.

De la evaluación de los Certificados de registro de las especialidades medicinales, se pudo advertir que la mayoría de ellas fueron autorizadas y registradas durante las décadas del 50 al 80 situación que determina que esos Certificados posean menor información del Producto con respecto a los que la ANMAT emite actualmente. No obstante ello, si bien dichos documentos no proveen datos característicos del producto tales como la fórmula detallada autorizada, esta información fue posible obtenerla a partir de los rótulos y prospectos aprobados y de la documentación mantenida en el establecimiento titular del certificado. Cabe destacar que los requisitos regulatorios y tecnologías para la elaboración y control de estos productos y otras especialidades medicinales de origen biológico han cambiado radicalmente desde aquellos tiempos hasta la actualidad. En particular un nuevo marco normativo para medicamentos de origen biológico ha sido establecido por la ANMAT habiendo entrado en vigencia a partir de fines del año 2011, es por ello que las verificaciones técnicas efectuadas durante este programa han sido conducidas dentro de un marco normativo diferente y de mayor exigencia respecto al que regía en aquellas décadas.

Respecto de los procesos productivos de los productos terminados (especialidades medicinales y vacunas individualizadas), ya se mencionó anteriormente que los IFAs utilizados para la elaboración de las especialidades medicinales corresponden en su mayoría a suspensiones conteniendo microorganismos inactivados y lisados, habiéndose descrito en forma general su proceso de obtención. Sólo unas pocas especialidades medicinales existentes en el mercado parten de IFAs polvos liofilizados estandarizados de uno o varios microorganismos, así como también polvos liofilizados que contienen fracciones ribosomales y membranosas o glucolípidos de determinados microorganismos.

De los registros de elaboración relevados, se desprende que la formulación del producto terminado se realiza en base a los millones de microorganismos necesarios de acuerdo a la fórmula autorizada para el producto. Ello se consigue de diferentes formas: 1) a partir de cada suspensión bacteriana individual, colocando un volumen de cada una de ellas ajustado en relación a la concentración de microorganismos que posean, según la fórmula del Producto; 2) a partir de cada polvo liofilizado individual, pesando la cantidad necesaria de cada uno ajustada de acuerdo a la concentración, según la fórmula del producto; y 3) a partir de una mezcla preformada que contiene el pool de microorganismos necesarios para la fórmula, mezcla que se obtiene por el simple mezclado y

homogenización de las suspensiones bacterianas individuales, ya inactivadas y lisadas, bajo condiciones adecuadas. Una variante a lo descrito en el punto tres la constituye un producto el cual si bien utiliza una mezcla de microorganismos inactivados y lisados, esta mezcla se obtiene a partir de la homogenización de las suspensiones bacterianas inactivadas sin lisar, sometiéndose posteriormente la mezcla a un tratamiento de lisis. En cuanto a la unidad de medida del IFA utilizada para formular el producto terminado, pudo constatarse que un laboratorio no realizaba corrección del volumen o cantidad a agregar del IFA en base a su concentración microbiana. Ello se verificó a partir de la orden de elaboración, donde se pudo constatar que la formulación se realizaba en base al agregado de un determinado volumen fijo de cada una de las suspensiones bacterianas individuales, no contemplando la corrección del volumen a agregar según la concentración de microorganismos de cada suspensión. De lo expuesto se desprende que al formularse la mezcla de la manera descrita, y al tener las suspensiones bacterianas una especificación para la concentración de microorganismos que puede variar en cada elaboración, el número de millones de microorganismos en el producto final podría diferir significativamente de los valores declarados.

En cuanto a los controles del IFA, como mencionamos anteriormente, ya sea que el laboratorio elabore el IFA o lo adquiera a partir de proveedores, se deben realizar controles de calidad sobre el mismo de acuerdo a procedimientos operativos estandarizados. La amplitud y profundidad de estos controles resulto variable entre los diferentes laboratorios, realizándose en algunos de ellos principalmente ensayos de calidad generales.

En contraste con lo relevado para la elaboración del IFA, los laboratorios cuentan con guías de manufacturas donde se registran todas las operaciones realizadas para la obtención de los Productos Terminados. En general los registros resultaron ser más completos, permitiendo la correcta trazabilidad al IFA de partida.

En cuanto a los pasos de elaboración, éstos dependerán de la forma farmacéutica del Producto a elaborar y de condiciones inherentes a la misma. Actualmente se encuentran en el mercado distintas formas farmacéuticas para estos productos, tales como comprimidos, polvo granulado, solución inyectable, polvo liofilizado para inyectables, grageas y cápsulas. El Producto Terminado obtenido se controla de acuerdo a procedimientos operativos estandarizados que describen los ensayos a realizarse de acuerdo a la forma farmacéutica involucrada. Al respecto pudo constatarse que se realizan ensayos generales (aspecto, caracteres organolépticos, solubilidad), ensayos fisicoquímicos (pH, humedad, proteínas, perfil UV), composición proteica, ensayos farmacotécnicos para comprimidos (peso promedio e individual, dureza, friabilidad, desintegración), gastrorresistencia para cápsulas, volumen extraíble y partículas para inyectables, ensayos microbiológicos (control higiénico o esterilidad según corresponda). Pudo observarse que dentro de la batería de ensayos, en su gran mayoría no son incluidos ensayos para obtener información sobre la identificación o valoración del producto. Entre los ensayos utilizados para identificar y valorar (información disponible de tres productos) se destacan: método de ELISA para identificación de microorganismos utilizando inmunosueros específicos; reacción en cadena de la polimerasa para identificación de fracciones ribosomales a partir de la amplificación del ARN ribosomal; ensayo biológico en cobayos utilizado para semicuantificar a través de curvas dosis-respuesta la cantidad de anticuerpos generadas por estimulación del producto inyectado; y ensayo biológico en células específicas que responden a la estimulación generada ante la exposición del Producto.

d) Control de calidad de las muestras retiradas: Del total de 26 muestras de suspensiones bacterianas inactivadas de distintos microorganismos lisados y no lisados analizadas en los laboratorios de control de biológicos del INAME, 12 fueron obtenidas en establecimientos que elaboran Productos alérgicos y las 14 restantes de Laboratorios de especialidades medicinales.

Los resultados de la determinación de la concentración de microorganismos por turbidimetría según escala de Mc Farland a 625 nm, fueron concordantes con los informados por el 50% de los laboratorios que determinan la cantidad de microorganismos totales por el mismo método. No fue posible hacer un análisis comparativo de los resultados y correlacionar los mismos en el caso de un laboratorio productor de especialidades medicinales dado que la determinación de la concentración de la suspensión bacteriana es realizada mediante recuento de los microorganismos viables al momento de finalizar la fermentación y en forma previa al proceso de inactivación mientras que el método turbidimétrico determina la concentración de microorganismos totales. Por otra parte, si bien otro de los laboratorios determina la cantidad de microorganismos totales por recuento en cámara de Neubauer también al finalizar la fermentación y previo a la inactivación, en ese caso se pudo observar que los resultados obtenidos en nuestro laboratorio tuvieron una buena correlación con los datos informados por el Laboratorio.

Respecto a la determinación de la concentración de fenol, se tomó como especificación 80- 120% del valor declarado por el elaborador del IFA. Si bien el 75% de las muestras evaluadas se encontraron dentro del rango establecido, lo hicieron dentro del límite inferior del mismo. Una muestra analizada presentó una concentración de fenol muy inferior al valor declarado, quedando fuera de la especificación. Investigadas las posibles causas del fuera de especificación se pudo detectar a partir del análisis de la evaluación de la documentación de

elaboración y control, que luego de la inactivación de los microorganismos se realizaban procesos adicionales, tales como concentración, la suspensión final no tendría entonces la cantidad de fenol teórica declarada por el laboratorio. Se indicó en este caso la conveniencia de realizar la cuantificación de fenol en la suspensión bacteriana al final de su elaboración, ya que la cantidad teórica agregada al inicio del proceso se ve afectada en los pasos posteriores involucrados en el proceso productivo.

Los ensayos microbiológicos demostraron concordancia con lo informado por los laboratorios, en cuanto al tipo de microorganismo presentes cocos gram positivos o bacilos gram negativos.

#### **Referencias**

1. Microbiological Methods & Bacteriological Analytical Manual (BAM). Food and Drug Administration
2. Farmacopea USP XXXV, Capítulo general para determinación de fenol.
3. Disposición 2819/04. ANMAT
4. Disposición 7075/11 Requerimientos para el registro de medicamentos de origen biológico. ANMAT
5. Disposición 6826/02 ANMAT
6. The Rules Governing Medicinal Products in the European Union. Volume 4 EU Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use. Annex 2 - Manufacture of Biological Medicinal Substances and Products for Human Use