



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICAS Y MATEMÁTICAS

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA Y BIOTECNOLOGÍA

**ESTUDIO DE FACTIBILIDAD TÉCNICO-
ECONÓMICO DE UNA PLANTA PRODUCTORA DE
KITS DE DIAGNÓSTICO CLÍNICO POR PCR EN
TIEMPO REAL**

MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERA CIVIL EN
BIOTECNOLOGÍA

CAROLINA ELIZABETH PACHECO VEGA

PROFESOR GUÍA
RICARDO BADILLA OHLBAUM.

MIEMBROS DE LA COMISIÓN
MARÍA ELENA LIENQUEO CONTRERAS
ROBERTO VALLADARES PAGLIOTTI

SANTIAGO DE CHILE
ENERO 2009

“ESTUDIO DE FACTIBILIDAD TÉCNICO-ECONÓMICO DE UNA PLANTA PRODUCTORA DE KITS DE DIAGNÓSTICO CLÍNICO POR PCR EN TIEMPO REAL”

La presente memoria de título estudia la factibilidad de producir y vender en Chile kits de diagnóstico con tecnología PCR en tiempo real, para detectar los 40 principales patógenos humanos mediante PCR en tiempo real. Entre los que destacan el virus del sida HIV, de las hepatitis tipo B y C, meningitis viral y herpes.

A partir del análisis del mercado nacional e internacional del diagnóstico molecular, se establecieron las oportunidades y amenazas, y se elaboró la cadena de valor del proceso para determinar las fortalezas y debilidades de la planta productiva. Luego de esto se analizaron dos modelos de negocio para el diagnóstico molecular: la prestación de servicios de laboratorios clínicos y el modelo de venta de kits, sin la prestación directa.

Se concluye que los laboratorios clínicos presentan ventajas porque adquirirían los kits producidos para ampliar la gama de exámenes prestados por sus laboratorios sin incurrir en gastos de desarrollo, y porque éstos podrían externalizar la producción en gran escala de desarrollos propios.

Se elaboró el diagrama de flujos del proceso y se buscaron las normas y reglamentaciones necesarias para la aprobación sanitaria, dada por el organismo regulador correspondiente. De esta búsqueda se estableció que el ISP es el organismo competente en estas materias, cuyas directrices en la elaboración de dispositivos médicos están dadas por la adopción de buenas prácticas de manufactura en el proceso productivo.

Para una producción de 1300 kits al año (60% del mercado actual en Chile), se estableció que la inversión de capital requerida es de \$593 millones, de los que \$123 millones corresponden a equipos, con un precio promedio del kit (para 100 reacciones) de \$336.500. El costo promedio anual de la planta es de \$283 millones, con \$144 millones en capital humano.

Los resultados de la evaluación económica del negocio indican un valor presente neto (a la tasa del 12%), es de \$1.079 millones, en un horizonte de evaluación de 10 años, con una tasa interna de retorno del 36 % y un tiempo de recuperación de la inversión de tres años.

La producción de kits de diagnóstico en el marco del Plan de Negocios estudiado resulta atractiva, recomendándose fortalecer las estrategias de comercialización asociadas a los productos en el mercado favoreciendo la instalación de termocicladores en tiempo real en los laboratorios clínicos.

Índice de Materias

Capítulo 1. Introducción.....	1
1.1 Antecedentes Generales.....	1
1.1.1 Descripción de las tecnologías de diagnóstico.....	3
1.1.2 Incidencia e importancia de las enfermedades a abordar	8
1.1.3 Legislación vigente.....	10
1.1.4 PCR real time.....	14
1.1.5 Características Técnicas y Especificaciones del producto	17
2 Objetivos.....	22
2.1 Objetivo General	22
2.2 Objetivos Específicos	22
3 Mercado de Diagnóstico Molecular	23
3.1 Mercado Global.....	23
3.2 Mercado Nacional	24
3.3 Oferta	24
3.4 Demanda.....	25
3.5 Análisis Interno	26
3.5.1 Fortalezas.....	26
3.5.2 Debilidades.....	26
3.5.3 Cadena de Valor	27
3.6 Análisis Externo	28
3.6.1 Oportunidades	28
3.6.2 Amenazas.....	28
3.6.3 Análisis de las Fuerzas de Porter	28
4 Modelos de Negocios Kits Diagnósticos.....	31
4.1 Laboratorio Diagnóstico	31
4.2 Planta Productora	32
4.2.1 Descripción del Proceso Productivo	34
4.2.2 Requerimientos sanitarios	36
4.2.4 Equipos e infraestructura.....	36

Layout	38
4.2.5 Requerimientos Organizacionales	40
4.2.6 Requerimientos de Comercialización	41
4.2.7 Estimaciones de Ingresos y Costos	41
4.2.7.4 Gastos de Preinversión	44
4.2.8 Flujo de Caja	46
5- Discusiones	47
6- Conclusión	50
7- Referencias	52
8- Anexos	53
8.1 Listado de los 40 patógenos del proyecto kits	53
8.2 Breve descripción de las enfermedades asociadas a los patógenos a detectar por los kits de diagnóstico	54
8.3 Estimación de Mercado	56
8.4 Precios de Kits de Referencia	57

Índice de Tablas

Tabla 1: Métodos diagnósticos y sus limitaciones.....	3
Tabla 2: Comparación de técnicas de detección microbiológica.....	7
Tabla 3: Detalle del Contenido del kit de diagnóstico	18
Tabla 4: Programas de diseño de partidores disponibles en la web.	20
Tabla 5: Compañías que producen <i>kits</i> de diagnóstico.....	23
Tabla 6: costos en reactivos por kit.	43
Tabla 7: Gastos Operacionales en recursos humanos	43
Tabla 8: Costos de embalaje por Kit	43
Tabla 9: Inversión en Equipos.....	44
Tabla 10: Gastos de Puesta en Marcha	45
Tabla 11: Capital de Trabajo.....	45
Tabla 12: Flujo de Caja para un horizonte de 10 años	46
Tabla 13: Listado de 40 patógenos involucrados en el proyecto kits.	53
Tabla 14: Proyecciones de mercado para la producción de kits	56
Tabla 15: Precios de Referencia Kits en el mercado.	57

Índice de Figuras

Figura 1: Reacción de PCR, donde a partir de una secuencia molde inicial, se obtienen múltiples copias de la secuencia inicial. Empieza con la desnaturación de la hebra, a las que se unen partidores para empezar la polimerización.....	14
Figura 2: Sondas Taqman. Representación de la actividad 5' nucleasa de la Taq polimerasa actuando sobre una sonda fluorescente durante la fase de extensión de la PCR.....	15
Figura 3: Representación esquemática de una sonda fluorescente tipo horquilla (molecular beacon).....	15
Figura 4: Esquema uso kit por PCR real time.....	17
Figura 5: Composición del Master Mix	18
Figura 6: Composición del Kit	18
Figura 7: Diagrama de Bloques del desarrollo de un kit de diagnóstico.....	19
Figura 8: Etapas de la Producción de Controles Positivos e Internos	20
Figura 9: Gráfico de distribución del grado de externalización de la producción	33
Figura 10 Diagrama de Bloques del Proceso de Producción de kits	34
Figura 11: Flowsheet de la Planta productora de kits.....	35
Figura 13: Robot de mezclado y alicuotado, modelo CAS 1200 de Corbett.....	36
Figura 14: Termociclador en tiempo real marca Corbett.....	37
Figura 15: Layout Planta Productora Kits de Diagnóstico, 15 x 35 m.	38
Figura 16: Laboratorio típico del nivel de bioseguridad 2. (Ilustración amablemente cedida por CUH2A, Princeton, NJ. EE.UU).	39

Capítulo 1. Introducción

1.1 Antecedentes Generales

Los éxitos terapéuticos obtenidos contra las enfermedades infecciosas, después de la mitad del siglo XX gracias al uso de antibióticos, hicieron pensar que las infecciones bacterianas no serían un problema, o a lo sumo serían un problema menor. Sin embargo, la creciente aparición y diseminación de estirpes bacterianas virulentas y de mecanismos de resistencia frente a todos los antibióticos disponibles han hecho incierta aquella predicción.

Por el contrario, adentrados ya en el siglo XXI, tal y como ya indicaba la Organización Mundial de la Salud en 1999 [1], las enfermedades infecciosas son una de las cargas más pesadas para la población, y muchas de estas infecciones son originadas o complicadas por agentes bacterianos y virales. Por tanto, al igual que antes de 1950, la humanidad se encuentra en una situación en la que es prioritaria la optimización de la lucha contra las enfermedades infecciosas. Como parte de este gran objetivo global, por tanto la microbiología clínica necesita optimizar el nivel de especificidad, sensibilidad y rapidez, la detección de agentes infecciosos y de sus genes de virulencia y de resistencia, lo cual permitirá ejecutar programas adecuados de prevención y tratamiento de estas enfermedades, en especial de patógenos no cultivables(o difícilmente), como virus.

La aplicación de técnicas microbiológicas convencionales, que requieren el crecimiento de los microorganismos para su posterior análisis fenotípico y bioquímico, ha pasado a ser complementada con la aplicación de métodos moleculares de diagnóstico. Como consecuencia de esto, el diagnóstico rápido, sensible y fiable de los agentes causales de las enfermedades infecciosas ha empezado a experimentar una revolucionaria transformación [2].

En la actualidad, entre tales metodologías, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es la más sensible y la que se aplica más satisfactoriamente en microbiología clínica. En particular, en el caso de patógenos que son difíciles de crecer *in vitro* o que presentan crecimiento lento, así como en el de todas aquellas infecciones clínicamente atribuibles a diferentes agentes, la PCR ha aportado un gran valor diagnóstico [3].

La PCR en tiempo real, es una nueva metodología que combina la PCR con el uso de marcadores fluorescentes de forma que se pueda monitorizar la cinética de la reacción, conocer la cantidad de ADN molde y detectar la presencia de variaciones genéticas. Los equipos para llevar a cabo la PCR a tiempo real, se denominan termocicladores en tiempo real, ya que incorporan un lector de fluorescencia y están diseñados para poder medir, la fluorescencia emitida en cada uno de los tubos donde se realice la amplificación. Los sistemas de detección por fluorescencia empleados en la PCR a tiempo real pueden ser de dos tipos: agentes intercalantes y sondas específicas marcadas con fluoróforos, diseñadas, como veremos más adelante, de manera especial.

La constante optimización de la PCR múltiple (herramienta que permite en una misma reacción detectar de forma simultánea y en un único tubo diferentes secuencias blanco, permitiendo la detección e identificación simultánea de distintos genes de interés) se plantea como una gran alternativa que permitirá la detección simultánea de un número cada vez mayor de secuencias blanco, a partir de un número también creciente de tipos de muestras clínicas y necesitando una cantidad menor de ácido nucleído molde. Durante los últimos años se han empezado a desarrollar protocolos de PCR múltiple muy prometedores mediante la utilización de PCR en tiempo real [3].

Aún es una técnica poco usada en Chile, principalmente por su alto costo, y poca variedad de patógenos detectados. Algunos laboratorios, principalmente universitarios, utilizan esta tecnología con desarrollos propios (*in house*), sin haber realizado una validación y para un reducido número de patógenos, haciendo imposible su uso masivo. Tampoco existen empresas que desarrollen *kits* por PCR en tiempo real, para la detección de patógenos humanos. Sin embargo, hay empresas extranjeras que comercializan algunos *kits* de detección, pero a elevados precios y realizando la validación con cepas foráneas.

El presente trabajo de memoria se enmarca en la necesidad de llevar la tecnología del PCR real time como una herramienta de análisis molecular de aplicación diagnóstica masiva, que permita expandir las fronteras del conocimiento a médicos tratantes, entregándoles herramientas altamente precisas y sensibles.

1.1.1 Descripción de las tecnologías de diagnóstico

Los métodos utilizados actualmente, para la detección de patógenos, son principalmente los serológicos y cultivos microbiológicos, los cuales tienen problemas de falsos positivos, falsos negativos, inespecificidad o poca sensibilidad. Además, en muchos casos hay patógenos difíciles de cultivar o de crecimiento muy lento, lo que demora un diagnóstico y tratamiento certero.

En la Tabla 1 se presentan varios métodos diagnósticos utilizados actualmente y sus limitaciones [5].

Tabla 1: Métodos diagnósticos y sus limitaciones

Método	Limitaciones	Ejemplos
Microscopía: Tinción Acido-rápida Tinción hematoxilina eosina Inmunofluorescencia directa	Poca sensibilidad Invasiva Falsos positivos	Espujo para M. tuberculosis Biopsia cerebral para VHS Espujo para Legionella
Cultivo	Baja viabilidad de patógenos Patógenos incultivables Bioseguridad Organismos fastidiosos Organismos de lento crecimiento	Chlamydia trachomatis T whippelii, VHC Hantavirus, Coxiella Haemophilus ducreyii Mycobacterium
Detección de antígeno	Falsos positivos Antígeno presente por largo tiempo Corto período de detección	Enzimo-Inmuno ensayo para C. trachomatis Orina para Legionella Suero para antígeno p24 VIH
Serología: análisis de anticuerpos en muestras de sangre.	Negativo en huésped inmunodeprimido Interpretación compleja Poca correlación con la enfermedad Altos títulos basales Reactividad cruzada	Anergia PPD Histoplasmosis IgG cápside viral VEB Enfermedad Lyme Enfermedad autoinmune
	Inespecífico	Anticuerpo heterófilo, RPR

La PCR es una de las técnicas moleculares que más beneficios ha entregado a la investigación científica, así lo demuestran las miles de publicaciones que citan a esta técnica, por ejemplo fue una de las técnicas esenciales en la secuenciación del genoma humano.

En medicina su principal uso es la detección de agentes infecciosos. Sin embargo, luego del hito que marcara la historia científica y médica, que es haber secuenciado completamente el genoma humano, el análisis genético será otro de los usos cada vez más importantes de esta técnica, por ejemplo el desarrollo de test de diagnóstico que permitan el diagnóstico neonatal de desórdenes genéticos, como fenilcetonuria, beta-talasemia, X frágil, fibrosis quística, etc., permitiendo el diagnóstico y el inicio de un tratamiento en forma temprana. Cada vez es más habitual el uso del test de paternidad, y lo serán también el análisis de mutaciones que permitirá calcular el riesgo de la aparición de ciertos tipos de cáncer.

A partir de 1990 se han desarrollado múltiples protocolos que permiten identificar de forma específica y rápida bacterias de diagnóstico difícil hasta ahora, como *Mycobacterium* spp. y *Chlamydia* spp., así como detectar la presencia de genes de relevancia clínica, como los que codifican resistencia a antibióticos o los que confieren mayor virulencia a los organismos que los portan.

Una vez optimizadas tales aplicaciones individuales de la PCR y comprobada su utilidad clínica, durante los últimos años ha cobrado gran interés el desarrollo de las denominadas PCR múltiples, reacciones que consiguen detectar de forma simultánea y en un único tubo diferentes secuencias diana, permitiendo la detección e identificación simultánea de distintos genes de interés.

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se utiliza normalmente en la rutina asistencial de la mayoría de los laboratorios, pero su empleo se ha limitado, con pocas excepciones, al campo de la virología. Por diversas razones, la PCR convencional se ha implementado poco en el diagnóstico de otras muchas enfermedades infecciosas a pesar de aportar indudables ventajas.

Durante los últimos años se han empezado a desarrollar protocolos de PCR múltiple muy prometedores mediante la utilización de PCR en tiempo real. Esta es una nueva metodología que combina la PCR con el uso de marcadores fluorescentes de forma que se pueda monitorizar la cinética de la reacción, conocer la cantidad de ADN molde y detectar la presencia de variaciones genéticas.

La PCR a tiempo real combinada con los nuevos sistemas automáticos para la purificación de ácidos nucleicos, ofrece una plataforma ideal para el desarrollo de una gran variedad de pruebas moleculares para la identificación y cuantificación de los agentes infecciosos de interés clínico. Debido a sus indudables ventajas, como la facilidad de empleo, la mayor rapidez o el menor riesgo de contaminación, la PCR a tiempo real, irá reemplazando la PCR convencional y se extenderá a un amplio abanico de aplicaciones microbiológicas.

En la PCR a tiempo real, los procesos de amplificación y detección se producen de manera simultánea en el mismo tubo cerrado, sin necesidad de ninguna acción posterior. Además, mediante detección por fluorescencia se puede medir durante la amplificación la cantidad de ADN sintetizado en cada momento, ya que la emisión de fluorescencia producida en la reacción es proporcional a la cantidad de ADN formado. Esto permite conocer y registrar en todo momento la cinética de la reacción de amplificación.

La primera gran ventaja de la PCR a tiempo real es su rapidez, puesto que no se necesita ningún proceso adicional de detección.

Otra ventaja muy importante de la PCR a tiempo real es que al utilizar sistemas cerrados, el riesgo de contaminación disminuye de forma muy importante. Los sistemas a tiempo real permiten cuantificar la concentración inicial de ácido nucleico presente en las muestras de manera mucho más sencilla, más precisa y sobre todo en un rango mucho mayor (5-6 log) que en los procedimientos convencionales (2-4 log). Asimismo, la determinación de mutaciones puntuales que pueden estar relacionadas con resistencias a medicamentos antimicrobianos o con factores de virulencia, es mucho más fácil. Los equipos para PCR a tiempo real tienen una capacidad muy elevada ya que en el mismo instrumento se pueden llevar a cabo ensayos cualitativos, cuantitativos, determinación de mutaciones, PCR múltiple, etc., mientras que para los procedimientos convencionales se requieren múltiples equipos.

Las aplicaciones de la PCR a tiempo real en el campo de la microbiología clínica no difieren de las que ya se han comentado para la PCR convencional. No obstante, es previsible que gracias a sus indudables ventajas y a la sencillez de su empleo, la PCR a tiempo real vaya reemplazando la PCR clásica, y que su aplicación se extienda a un número cada vez mayor de agentes infecciosos, implementándose progresivamente en la rutina asistencial. Algunas empresas de diagnóstico

(Roche Diagnostics, Artus, Abbott, Celera) han hecho ya una apuesta decidida por la nueva tecnología y tienen disponibles kits para el diagnóstico de los agentes infecciosos de mayor interés comercial mediante sistemas de PCR a tiempo real (VIH, VHB, VHC, Citomegalovirus). Sin embargo, hay muchas enfermedades infecciosas, con menor interés comercial, en las que el uso de métodos moleculares de diagnóstico aporta indudables ventajas. La PCR a tiempo real, combinada con los nuevos sistemas automáticos para la preparación de las muestras, ofrece una plataforma ideal para el desarrollo de una gran variedad de pruebas moleculares para la identificación o cuantificación de esos agentes infecciosos.

Otro campo potencial de aplicación de la PCR a tiempo real es en la identificación de organismos fácilmente cultivables, cuya detección rápida sea beneficiosa por algún motivo. Por ejemplo, la identificación de *Streptococcus* del grupo B (*S. agalactiae*) en frotis vaginales. La colonización del tracto genital de mujeres parturientas por este agente se relaciona con un mayor riesgo de infección neonatal grave. El tiempo necesario para el aislamiento de esta bacteria mediante cultivo es de 1-2 días, mientras que por PCR a tiempo real su identificación se puede llevar a cabo en 40 min. La reducción del tiempo de diagnóstico puede mejorar la prevención de esas infecciones en recién nacidos. En otros casos, como la sepsis, la supervivencia del enfermo puede depender de un diagnóstico precoz del agente causal que permita establecer el tratamiento antibiótico específico en etapas tempranas del proceso. Probablemente en pocos años se habrán optimizado protocolos de PCR múltiple a tiempo real para la identificación de los 10 o 20 agentes más frecuentes de la sepsis en unas pocas horas. Lógicamente, la PCR a tiempo real no va a reemplazar al hemocultivo, porque la sepsis puede estar ocasionada por una variedad de microorganismos mucho más amplia, pero la demora en el tratamiento se podrá reducir en un número considerable de casos, lo que sin duda puede mejorar el pronóstico de este grave proceso.

Las razones por las cuales se decidió por la técnica de PCR en tiempo real, es porque presenta ventajas sobre las tecnologías usadas actualmente para la detección de estos patógenos. Por ejemplo:

- Patógenos difíciles de cultivar: *Bordetella*, *Chlamydia*, *Mycoplasma*, *Legionella*, virus en general. Con PCR no se necesita cultivar, no requiere de la viabilidad del microorganismo.

- Patógenos de crecimiento lento: En Mycobacterium y micoplasmas, un resultado rápido es muy importante, especialmente en patologías como las producidas en el sistema nervioso central (meningitis, encefalitis); en cambio, por cultivo es necesario un mínimo de 1-2 días para darse una idea del patógeno. Con PCR los resultados estarán en 3 horas.
- Técnica habitual poco sensible: Chlamydia, Mycobacterium, Neisseria, Treponema, virus. PCR es una técnica altamente sensible.
- Técnica habitual poco específica: Mycoplasma pneumoniae, por el contrario PCR es muy específica.

En la Tabla 2 se puede observar una comparación entre la técnica de PCR en tiempo real y otros métodos de detección de patógenos.

Tabla 2: Comparación de técnicas de detección microbiológica

Características	Cultivo	Serología	PCR Convencional	PCR Tiempo Real
Sensibilidad	Alta, pero varía según el medio de cultivo	Alta, pero no certera, puede depender de la cantidad de patógeno	Alta	Alta, es la técnica más sensible que existe
Especificidad	Alta, pero varía según el medio de cultivo	Media. Puede dar positivo por otras enfermedades	Alta, al estar bien definidos los partidores	Altamente específica
Tiempo de respuesta	Días, incluso meses	Horas	6-8 horas	2-3 Horas, técnica muy rápida
Cuantificación	Si	No	No	Si
Tipo detección	colonias	Indirecta por anticuerpos	Detecta el genoma del patógeno	Detecta el genoma del patógeno
Uso actual en Chile	Para casi todos los agentes microbianos	Para cerca del 60% de los patógenos	20-30 patógenos, desarrollo "in house"	<10 patógenos

Actualmente la técnica de PCR en tiempo real, es utilizada a nivel nacional, principalmente en universidades como herramienta en investigación. En diagnóstico son pocos los laboratorios que la utilizan, por su elevado costo y poca variedad de kits.

En el mundo, hay pocas empresas que han desarrollado kits de detección y a precios muy elevados. Esto se debe, principalmente, al gran número de restricciones que imponen los países europeos y norteamericanos, y los elevados costos de las pruebas clínicas para validar la técnica.

Otro hecho destacable, es la existencia hasta el año 2005 en EEUU y la comunidad europea de la patente sobre la técnica de PCR, la que limitaba su uso sólo en investigación científica. Dicha patente no operaba en Chile.

1.1.2 Incidencia e importancia de las enfermedades a abordar

Los 40 patógenos incluidos en el proyecto Kits [5] (ver Anexo 8.1), pertenecen a las áreas gineco-obstétrica, perinatal, respiratoria e infecciones del sistema nervioso central (SNC), son los más importantes epidemiológicamente, algunos de ellos provocan graves enfermedades o secuelas, presentando PCR real time las mayores ventajas en relación a las técnicas tradicionales.

Los patógenos que se detectarán a través de estos kits están involucrados en infecciones de mujeres, embarazadas, recién nacidos, niños, adultos e inmunodeprimidos. Dichos patógenos son los más importantes, en términos de prevalencia, gravedad de la enfermedad y gastos por tratamiento para el sistema de salud en las áreas que corresponden.

La mayoría de estos patógenos no han sido incluidos en kits de diagnóstico con la técnica que se propone implementar, y más aun los pocos kits que existen son con cepas foráneas y de alto costo (productos importados). Además, este número de patógenos permitirá ofrecer una gran variedad de kits a los laboratorios de diagnóstico, diversificando su gama exámenes a prestar.

Aunque se ha acotado el número de patógenos en 40, de deja una ventana abierta para incluir algún patógeno de relevancia, que pudiera aparecer en el transcurso del desarrollo de este proyecto, por ejemplo, si la cepa H5N1 (influenza aviar) del virus influenza se convirtiera en un agente epidemiológico humano importante.

Uno de los aspectos más relevantes de este proyecto es el diseño y escalamiento del proceso productivo, contando con la existencia de las secuencias nucleotídicas de los patógenos a detectar y microorganismos genéticamente relacionados.

La validación de los kits desarrollados se realizará comparando la técnica con una de referencia, permitiendo realizar la evaluación de conformidad ante el Instituto de Salud Pública (ISP) en una primera instancia y posteriormente en organismos homólogos internacionales, para su aprobación como kit de diagnóstico in vitro, para su exportación. La estandarización y validación se realizará utilizando muestras de pacientes chilenos y con cepas de referencia, lo que garantiza un buen funcionamiento de los kits en detección de cepas circulantes en Chile.

Un producto de buena calidad y precio competitivo, en relación a las técnicas existentes actualmente, permitirá masificar el uso de esta tecnología, tanto en el sector público como privado de la salud.

El desarrollo de los kits comprende reacciones de PCR en formato de detecciones simples o múltiples. Esto permitirá, dependiendo de las necesidades del laboratorio, hacer reacciones para detectar un patógeno o utilizar una reacción múltiple cuando se requiera sondear varios de los patógenos que pueden ser los responsables de la infección.

El fin último será proveer al mercado chileno y latinoamericano de una alternativa de diagnóstico de última tecnología, mentada, diseñada y validada para este mercado.

1.1.3 Legislación vigente

La planta industrial para su funcionamiento requiere de la aprobación del Instituto de Salud Pública (ISP), el cual establece una guía de buenas prácticas de manufactura [6]. En dicha guía, se establece una calificación para cada ítem a evaluar, los ítems imprescindibles, necesarios, recomendables e informativos.

Para obtener la autorización del ISP deben ser cumplidos en modo absoluto e incuestionable los ítems catalogados como imprescindibles y necesarios, ya que afectan en un modo crítico o semicrítico la calidad del producto y/o la seguridad de los trabajadores. De lo contrario implica la inhabilitación de la actividad de la planta o de uno más sectores de la misma, que en el caso de planta nueva, ello implica la presentación de una nueva solicitud de habilitación y en el caso de los factores relacionados con las condiciones mínimas de higiene y de procedimientos, el incumplimiento dará lugar al otorgamiento de plazos perentorios para su cumplimiento.

Un kit de diagnóstico corresponde a un dispositivo médico y por lo tanto está normado de acuerdo al marco regulatorio para dispositivos médicos, ley N°19.497 y reglamento D.S. N° 825/98, que dan las directrices para la aplicación de la legislación vigente [7].

El término dispositivo médico define a instrumentos, aparatos, materiales, y otros artículos, incluyendo sus componentes, partes o accesorios, para ser usados solos o en combinación y ser aplicados en seres humanos, destinados principalmente al diagnóstico, prevención, monitoreo, tratamiento y alivio de enfermedades, daño o incapacidad. Además son utilizados en investigación, reemplazo o modificación de la anatomía, en los procesos fisiológicos y el control de la concepción.

Bajo esta definición se ubica un gran número de aparatos, instrumentos, reactivos de diagnóstico y elementos que se utilizan en las diversas especialidades de la medicina, desempeñando un papel de creciente importancia en los diferentes niveles de atención de salud.

El fabricante de estos elementos de uso médico debe ser plenamente responsable de la calidad, ya que ésta debe ser diseñada y creada junto con el producto, incluyendo la seguridad y eficacia. Así los procesos productivos, que incluye desde la selección de las materias primas hasta la liberación

al mercado de un producto, se deben someter a rigurosos procesos de control de calidad para asegurar que el producto final cumpla con las especificaciones de calidad diseñadas.

Hoy en día, los fabricantes internacionales están aplicando en el proceso de fabricación, la familia de las normas ISO, en particular, la norma ISO 9000-2000 que se refiere al sistema de calidad: "Módulo para el aseguramiento de la calidad en el diseño, desarrollo, producción, instalación y servicio posventa de un producto", que es la norma por excelencia elegida para asegurar la calidad del producto final.

Diferentes países se han preocupado de legislar en esta materia y clasifican a los dispositivos médicos de acuerdo al riesgo y complejidad. Chile realizó una clasificación de los dispositivos, recopilando información de países como Canadá, México, Estados Unidos y la Comunidad Económica Europea y los agrupó en 4 clases: Clase I, Clase II, Clase III y Clase IV, en función del riesgo, vulnerabilidad para el ser humano y complejidad en su fabricación.

El objetivo de dicha clasificación, está enfocado a ejercer diferentes controles para cada uno de ellos, tendientes a minimizar riesgos de producir enfermedad o daño y otorgar seguridad y eficacia a los usuarios [8].

Bajo esta clasificación los kit de diagnóstico por PCR en tiempo real corresponderían a los de clase II, por ser un dispositivo médico extracorporal, para diagnóstico in vitro.

Por otro lado, los kits producidos no serán patentados, por el momento, con el fin de proteger la propiedad industrial, ya que la tramitación de la patente de los kits obligaría a publicar los diseños, facilitando su copia.

Cabe señalar que la patente de PCR se encontraba bajo la protección de Roche hasta el año 2005, en EEUU (U.S. Patent N°s: 4.683.195 y 4.683.202), y hasta 2006 en Europa (EP Patent N°s: 0 201 184 y 0 200 362). Por este motivo en Europa y Estados Unidos no se hicieron mayores desarrollos de kits de diagnóstico, a través de esta técnica. La patente solo permitía el uso a nivel de investigación en universidades e institutos de investigación. En Chile, esta patente no aplicaba, es por esto que laboratorios locales la han utilizado por más de 10 años con fines diagnósticos.

En Chile tampoco encuentran patentadas la enzima Taq polimerasa ni las sondas marcadas con fluoróforos, por lo tanto no hay un costo asociado a la adquisición de sus patentes.

En materia medioambiental, en el artículo 10 de la Ley Sobre Bases Generales del Medio Ambiente (Ley 19.300) y en el artículo 3 del Reglamento del SEIA [9] se listan los proyectos o actividades susceptibles de causar impacto ambiental que deben obligatoriamente someterse al Sistema de Evaluación de Impacto Ambiental (SEIA). El decreto supremo D.S. N° 95 de 2001, del Ministerio Secretaría General de la Presidencia, contiene el Reglamento del Sistema de Evaluación de Impacto Ambiental, el que establece las disposiciones por las cuales se regirá el Sistema de Evaluación de Impacto Ambiental y la Participación de la Comunidad, de conformidad con los preceptos de la Ley N° 19.300 sobre Bases Generales del Medio Ambiente [10].

De acuerdo a lo allí estipulado la planta solo deberá presentar una declaración de impacto ambiental, ya que ni sus dimensiones ni sus emisiones generan impacto, como se detalla a continuación.

La planta de kits de acuerdo a lo señalado en la letra k) del Decreto Supremo 95/01, en su artículo 3ª, no es de dimensión industrial:

k) Instalaciones fabriles, tales como metalúrgicas, químicas, textiles, productoras de materiales para la construcción, de equipos y productos metálicos y curtiembres, de dimensiones industriales. Se entenderá que estos proyectos o actividades son de dimensiones industriales cuando se trate de:

k.1. Instalaciones fabriles cuya potencia instalada sea igual o superior a dos mil kilovoltios-ampere (2.000 KVA), determinada por la suma de las capacidades de los transformadores de un establecimiento industrial.

k.2. Instalaciones fabriles correspondientes a curtiembres cuya capacidad de producción corresponda a una cantidad igual o superior a treinta metros cuadrados diarios (30 m²/d) de materia prima de cueros.

Con respecto a definir si la planta necesita un Estudio de Impacto Ambiental o una Declaración de Impacto Ambiental. Según el Artículo 4 del DS N° 95/01, "El titular de un proyecto o actividad que se someta al Sistema de Evaluación de Impacto Ambiental, lo hará presentando una Declaración de Impacto Ambiental, salvo que dicho proyecto o actividad genere o presente alguno de los efectos, características o circunstancias contemplados en el artículo 11 de la Ley y en los artículos siguientes de este Título, en cuyo caso deberá presentar un Estudio de Impacto Ambiental". Los puntos contemplados en el artículo 11 se discuten a continuación:

- a) *Riesgo para la salud de la población, debido a la cantidad y calidad de efluentes, emisiones o residuos;*

Los volúmenes de trabajo son fácilmente controlables con las medidas de bioseguridad de laboratorios.

- b) *Efectos adversos significativos sobre la cantidad y calidad de los recursos naturales renovables, incluidos el suelo, agua y aire;*

No se ven afectados ni suelo, ni aire ni agua por la producción de kits.

- c) *Reasentamiento de comunidades humanas, o alteración significativa de los sistemas de vida y costumbres de grupos humanos;*

- d) *Localización próxima a población, recursos y áreas protegidas susceptibles de ser afectados, así como el valor ambiental del territorio en que se pretende emplazar;*

- e) *Alteración significativa, en términos de magnitud o duración, del valor paisajístico o turístico de una zona, y*

- f) *Alteración de monumentos, sitios con valor antropológico, arqueológico, histórico y, en general, los pertenecientes al patrimonio cultural.*

Para las letras c), d), e) y f) no aplican al ubicar la planta en una zona industrial.

1.1.4 PCR real time

La técnica de PCR (reacción en cadena de la polimerasa), fue desarrollada en 1983 por Kary Mullis, para amplificar fragmentos de ADN. Ella utiliza la capacidad de una enzima DNA polimerasa termoestable (taq polimerasa), que extiende cortas secuencias nucleotídicas durante repetidos ciclos de desnaturación, hibridación y extensión de los partidores (ver Figura 1). Los partidores están diseñados para unirse en forma específica al fragmento de ADN a ser amplificado. La Taq DNA polimerasa usa el ADN blanco agregado a la reacción como templado. En cada ciclo, más ADN es sintetizado, proveyendo templado adicional. La reacción prosigue en una forma exponencial, duplicando la cantidad de templado en cada ciclo, hasta que uno de los reactivos comienza a ser limitante, entonces la reacción alcanza un plateau.

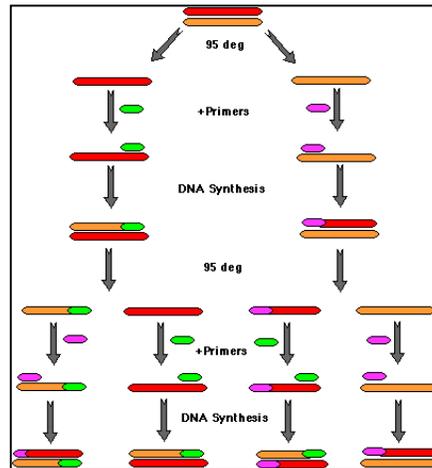


Figura 1: Reacción de PCR, donde a partir de una secuencia molde inicial, se obtienen múltiples copias de la secuencia inicial. Empieza con la desnaturación de la hebra, a las que se unen partidores para empezar la polimerización.

La técnica de PCR en tiempo real combina la amplificación de secuencias de ADN con la detección del producto en un único tubo. Esto es altamente benéfico debido a que elimina el riesgo de contaminación por apertura de los tubos por manipulación post PCR. Por otro lado, disminuye el tiempo de análisis y puede entregar resultados cuantitativos.

La amplificación en Tiempo real fue descrita inicialmente como "PCR cinética" por Higuchi *et al.* en 1993 [11]. En PCR en tiempo real hay dos tipos de química que son usadas, una que distingue en

forma específica la secuencia del fragmento amplificado y otra no específica que detecta cualquier secuencia en estado de doble hebra.

El método estándar para la detección no específica es un colorante que se intercala entre las hebras de ADN. El colorante más utilizado es el SYBR Green. Esta sustancia al estar unida al ADN de doble hebra, aumenta significativamente su fluorescencia.

Los métodos específicos de detección están representados por diferentes tipos de sondas. La utilización de sondas permite realizar detecciones múltiples en una única reacción.

Las sondas Taqman son el tipo más ampliamente difundido. La sonda marcada posee un fluoróforo en su extremo 5' y un "quencher" en el extremo 3', el fluoróforo al ser excitado tras pasa su energía al "quencher" sin ser detectado. La Taq DNA polimerasa posee una actividad nucleasa 5', con lo cual al encontrar la sonda unida a la secuencia blanco, rompe la sonda dejando de esta forma libre el fluoróforo, el cual estaba "apagado" por el "quencher" (ver Figura 2).



Figura 2: Sondas Taqman. Representación de la actividad 5' nucleasa de la Taq polimerasa actuando sobre una sonda fluorescente durante la fase de extensión de la PCR.

Otro formato de sondas muy usado es el "Molecular Beacons", este formato consiste en una estructura en forma de horquilla (ver Figura 3). Un fluoróforo está unido a un extremo de la sonda y un "quencher" en el otro extremo. En ausencia de secuencia blanco la sonda está plegada, impidiendo que el fluoróforo sea detectado. Cuando la sonda encuentra el fragmento amplificado, la estructura en horquilla desaparece y el fluoróforo puede emitir fluorescencia libremente (ver Figura 3).

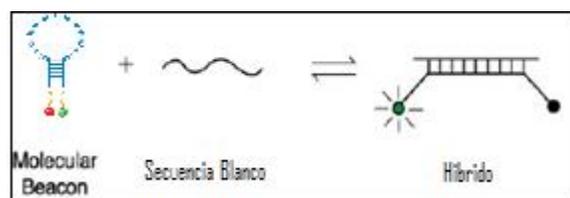


Figura 3: Representación esquemática de una sonda fluorescente tipo horquilla (molecular beacon).

Otros ejemplos de formatos de sondas son: escorpión, las sondas de hibridación y Lux primers.

Cuantificación por PCR en tiempo real:

El concepto de "threshold cycle" (C_t) (ver Figura 4) permite una exacta y reproducible cuantificación del producto de PCR usando fluorescencia. Los valores de fluorescencia son registrados en cada ciclo y representan la cantidad de producto amplificado. Si más templado está presente en el comienzo de la reacción, menor cantidad de ciclos tomará alcanzar el punto en el cual la fluorescencia es significativamente mayor que el ruido de fondo. Generando una curva estándar con copias del templado es posible realizar la cuantificación en una muestra por interpolación en la curva estándar.

El equipo que genera los ciclos de temperatura necesarios para la desnaturación de las hebras y la detección de fluorescencia se denomina termociclador en tiempo real.

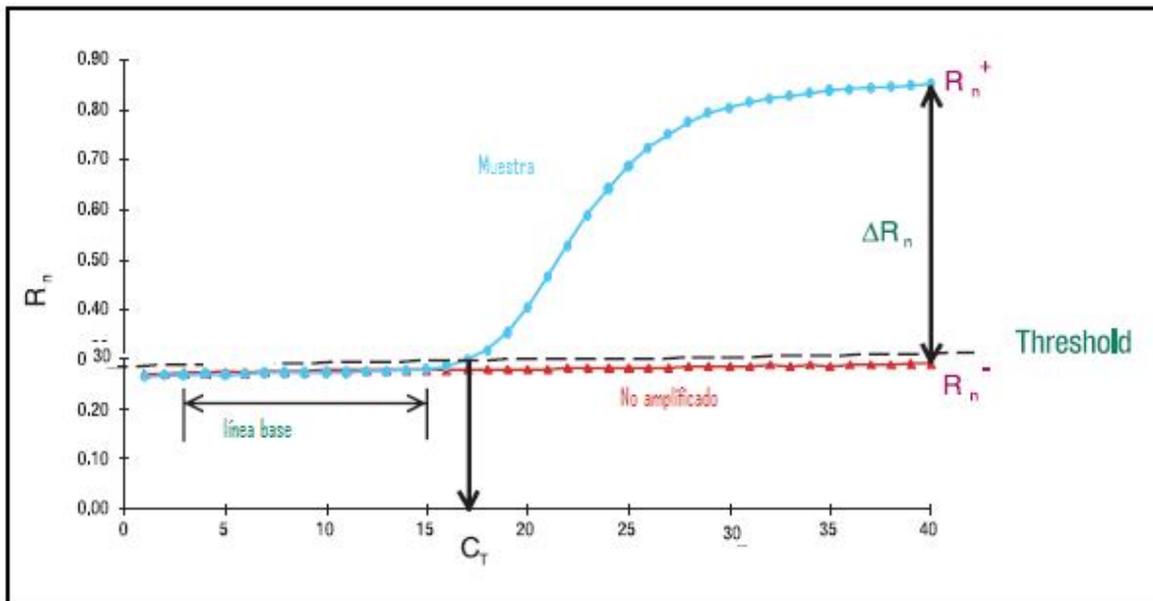


Figura 4: Cinética de la reacción de PCR en tiempo real, muestra el punto(o ciclo), donde la fluorescencia es superior al ruido de fondo, denominado Threshold Cycle, C_T

1.1.5 Características Técnicas y Especificaciones del producto

Un kit de diagnóstico corresponde a un conjunto de reactivos premezclados (ver Figuras 7 y 8), que permiten analizar una muestra entregando un rápido diagnóstico, pues ahorran pasos de un protocolo convencional. Además se obtiene un resultado estandarizado, comparable entre laboratorios bajo el mismo protocolo.

Un kit de diagnóstico puede funcionar bajo variados principios, fluorescencia, cambios colorimétricos, PCR, entre otros.

Un kit de diagnóstico por PCR real time tiene como principio de funcionamiento la reacción en cadena de la polimerasa medida en cada ciclo de amplificación, entregando un curva de emisión de fluorescencia en tiempo real. Sus resultados, por lo tanto, pueden ser cuantitativos correlacionando la fluorescencia emitida con la cantidad de DNA molde inicial. A mayor fluorescencia, mayor cantidad de DNA.

La reacción de PCR es llevada a cabo en un equipo denominado termociclador, el que genera cíclicamente cambios de temperatura los que permiten la amplificación del material genético en análisis.

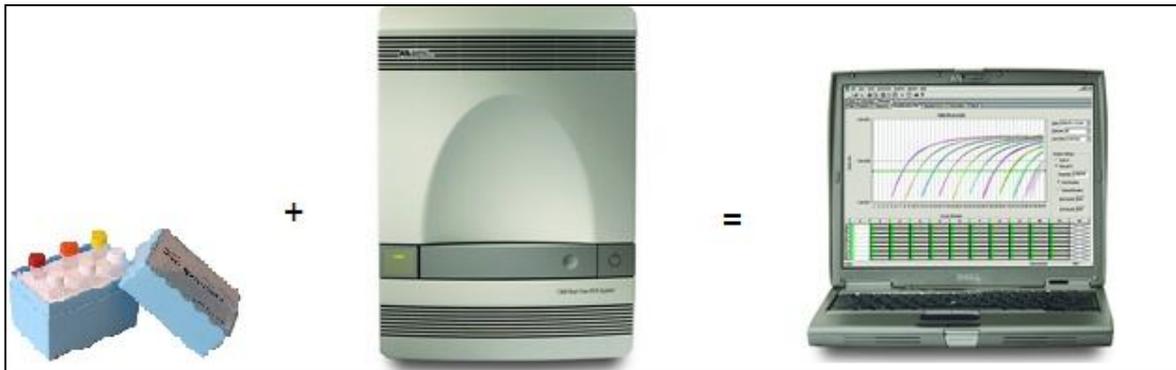


Figura 4: Esquema uso kit por PCR real time.

En este caso el producto consiste en un kit diagnóstico bajo el principio de PCR real time, compuesto por 4 tubos: un MasterMix específico par cada kit, un control positivo, el control negativo y la enzima (ver Tabla 3). El Master Mix, es único para cada kit pues contiene la sonda

que detecta el patógeno a diagnosticar. Los demás tubos controles y de enzima los mismos en todos los kits.

Cabe hacer notar que las sondas marcadas con fluoróforos son fotosensibles y por lo tanto su almacenamiento es en tubos opacos de color ámbar.

Tabla 3: Detalle del Contenido del kit de diagnóstico

Tubo	Nombre	Contenido	Cantidad por Kit	Unidad
Ámbar	MasterMix	Partidor 1	533	pmol
		Partidor 2	533	pmol
		Sonda 1	8.571	pmol
		Sonda 2	6.600	pmol
		dNTPs	990	nmol
		Control Interno	400	microL
		Mg+2	960	microL
		Buffer de reaccion	800	microL
Verde	Enzima	Enzima Polimerasa	30.888	u
		Buffer almacenamiento	400	microL
Rojo	Control Positivo	Control Positivo	100	microL
Azul	Control Negativo	Agua Ultra Pura	350	microL

Caducidad del producto: 6 meses a -20 °C.

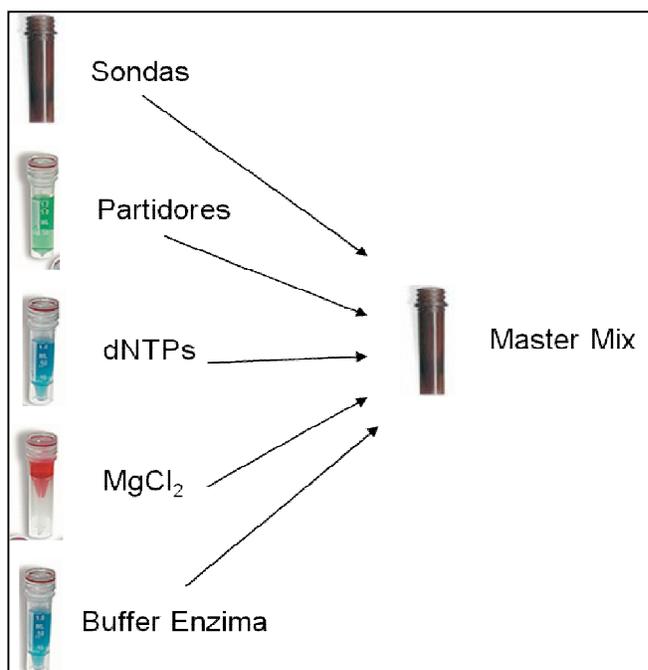


Figura 6: Composición del Master Mix

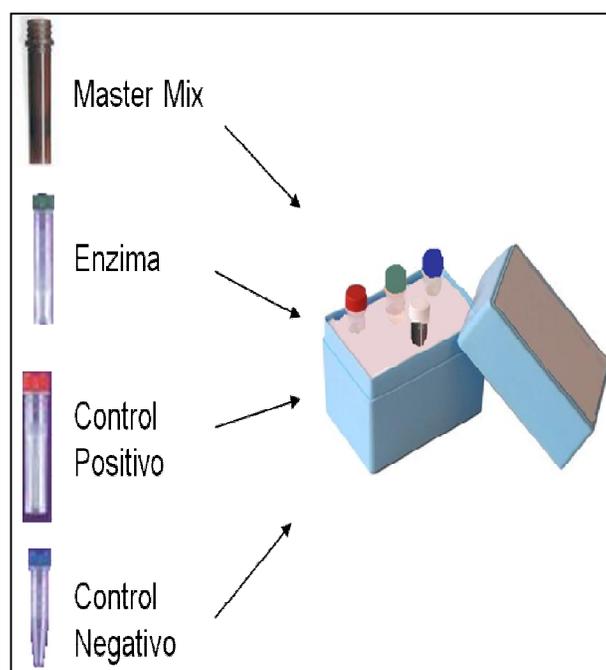


Figura 5: Composición del Kit

Para desarrollar un kit se requiere de 5 etapas principales:



Figura 7: Diagrama de Bloques del desarrollo de un kit de diagnóstico

- 1) Diseño de Partidores y sondas: consiste en la búsqueda de secuencias genómicas existentes en las bases de datos internacionales y en la utilización de programas computacionales especializados para hacer el análisis comparativo de secuencias, definiendo de esta forma las secuencias que serán utilizadas como partidores o sondas en las reacciones de PCR en tiempo real.

Los partidores deben ser específicos para la región que se desea amplificar, mantener la suficiente energía necesaria para las condiciones experimentales y evitar la formación de estructuras que puedan impedir la reacción. Para lograr su especificidad para una determinada región de DNA existen reglas mínimas de diseño:

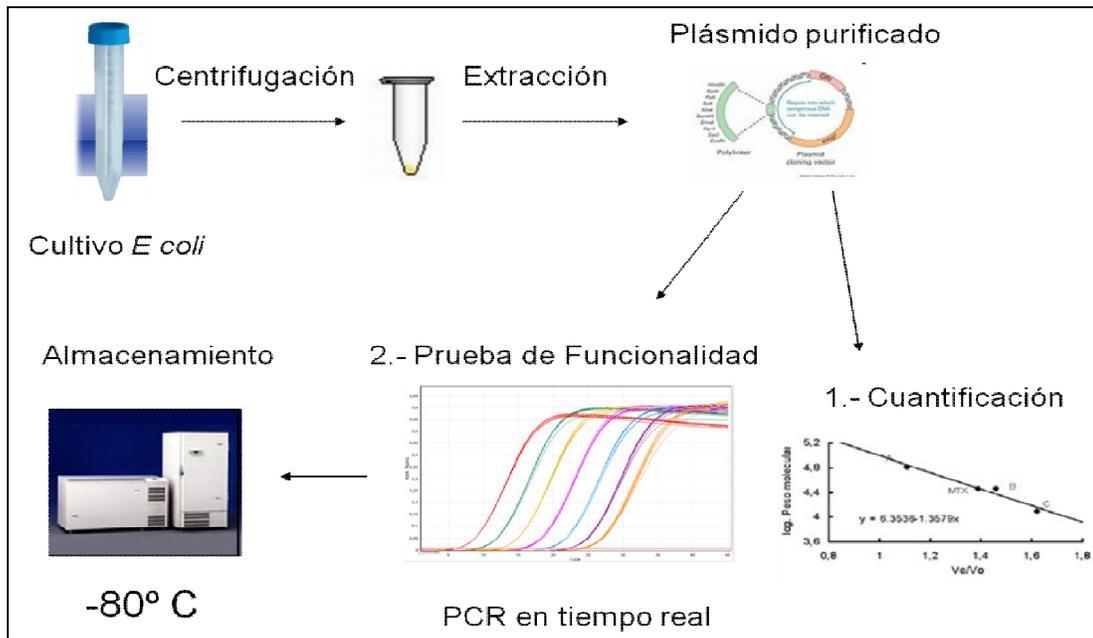
- Longitud: entre 18 y 25 pares de bases, que hacen que la temperatura óptima para el alineamiento ("melting"), oscile entre 50 y 60°C.
- Contenido de G-C: se prefiere oligonucleótidos con un contenido de GC de 40 a 60%, que les da estabilidad y una temperatura de "melting" apropiada.

- La temperatura de “melting”: debe ser lo más parecida posible entre partidores (máximo 5 grados de diferencia).
- Es importante observar que no existan más de 3 repeticiones consecutivas de una base en su diseño o que los extremos 5’ y 3’ no sean complementarios para evitar la formación de dímeros u horquillas que alteren la amplificación [12].

Tabla 4: Programas de diseño de partidores disponibles en la web.

Software	Operating systems	Available from *
CODEHOP	Online	http://blocks.fhcrc.org/codehop.html
FastPCR	Microsoft Windows	http://www.biocenterhelsinki.fi/bi/Programs/fastpcr.htm
GeneFisher Interactive Primer Design	Online	http://biblaerv.techfak.uni-bleiefeld.de/genefisher/
Gene search and validation BLAST	Online	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/producttable.shtml
Primer3 (Pick primers from a DNA sequence)	Online	http://frodo.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3/primer3_www.cgi
PCR Suite (a collection of programs that interact with the Whitehead's Primer3 program.)	Online	http://www2.eur.ni/fgg/kgen/primer/index.html
ProbeFinder Software (which uses Primer3 for primer design)	Online	http://www.universalprobelibrary.com  For more information on the ProbeFinder Software and the Universal Probe Library, see Chapter 7
PrimerX	Online	http://bioinformatics.org/primerx/
Primo Pro	Online	http://www.changbioscience.com/primo/primo.html

- 2) Optimización: La estandarización de las reacciones de PCR se realizará utilizando cepas puras virales o bacterianas siguiendo protocolos establecidos de estandarización, con el fin de obtener la concentración mínimas de cada reactivo que junto con las condiciones de PCR de tiempo y temperatura lleven a su óptimo funcionamiento (reacción sensible y específica).
- 3) Producción de controles: Una vez definidas las reacciones de PCR en tiempo real se realizará la producción de controles positivos e internos para los *kits* de diagnóstico. Esto se hará por clonamiento de fragmentos de PCR, síntesis de ssADN o síntesis *in vitro* de ARN.



- 4) Validación: La validación de los *kits* de PCR en tiempo real será realizado con la técnica de referencia en los laboratorios, principalmente el *gold standard* en la detección de cada patógeno o la técnica de mayor uso en la actualidad, corroborando su funcionamiento clínico.
- 5) Evaluación de Conformidad: la evaluación de conformidad se refiere al trámite voluntario realizado en el instituto de salud pública(ISP), en el que se presenta documentación del kit(inserto), para su uso en muestras no de sangre. El trámite para un kit que utiliza muestras de sangre es de carácter obligatorio (kits de detección de HIV y Hepatitis por ejemplo).

2 Objetivos

2.1 Objetivo General

Determinar si es factible, técnica y económicamente, el modelo de negocio de venta de kits de diagnóstico por PCR en tiempo real, para detectar los 40 principales patógenos humanos de Chile. Esto, tras el análisis del mercado nacional, la legislación vigente y los costos e ingresos de la planta productora de Kits.

2.2 Objetivos Específicos

Hacer una revisión de las herramientas de diagnóstico microbiológico clínico utilizadas para detectar los principales patógenos humanos e identificar las ventajas de un kit por PCR en tiempo real como sustituto de dichas técnicas.

Caracterizar el producto y sus requerimientos para realizar la producción en gran escala.

Determinar las exigencias de la legislación vigente en materia de dispositivos médicos para la autorización sanitaria del ISP.

Determinar el nivel de producción inicial, de acuerdo a proyecciones sobre el número de prestaciones de microbiología de los laboratorios clínicos de biología molecular chilenos.

Diseñar el proceso productivo y su escalamiento de acuerdo a buenas prácticas de manufactura (GMP).

Determinar los costos fijos, variables y de inversión para realizar la evaluación económica.

Proponer estrategias de comercialización y canales de distribución del producto para su inserción en el mercado.

3 Mercado de Diagnóstico Molecular

3.1 Mercado Global

El mercado mundial del diagnóstico molecular ha sido el de más rápido crecimiento dentro de la industria del diagnóstico *in vitro*, creciendo las ventas en los últimos años sobre el 20% anual.

Cabe destacar que entre las de mayor crecimiento se encuentran recientes emprendimientos, como los de la española Biotools con un 70 % de crecimiento, detectando por PCR en tiempo real alrededor de 11 patógenos (ver Tabla 5[13]).

A nivel general, la venta mundial de productos de diagnóstico molecular a laboratorios clínicos alcanzó los 1.400 millones de dólares en el año 2003[14].

Tabla 5: Compañías que producen kits de diagnóstico

Compañía	Tecnología	Nº patógenos	Crecimiento	Fuente
Roche Diagnostics	Amplicor	6	11%	Roche Annual Report
Roche Diagnostics	RT-PCR	9	6%	Roche Annual Report
Gen-Probe	TMA	7	18%	Gen-Probe Annual Report
Digene	HC2	4	29%	Digene Announces Third Quarter Fiscal 2005 Results
bioMérieux	NASBA	4	–	2004 Revenues Molecular Biology
Bayer Diagnostics	Versant	3	–	–
Artus (QIAGEN)	RT-PCR	22	–	QIAGEN Report
Prodesse	RT-PCR	11	40%	Biotech Firm Seeks FDA OK, Venture Capital
Biotools	RT-PCR	11	70%	Company and Financial Information
GeneOhm	RT-PCR	1	48%	BD Announces Agreement to Acquire GeneOhm Sciences

3.2 Mercado Nacional

Dentro de los competidores en el mercado de detección de patógenos humanos por técnicas moleculares, Bioscan S.A. cuenta con el 50% del mercado actual, el resto corresponde a los servicios prestados por laboratorios clínicos de universidades y de las clínicas Alemana y Las Condes.

Actualmente el mercado es pequeño, un 2% de las prestaciones de microbiología corresponden a PCR en tiempo real, debido al alto nivel de precios que se cobra por los servicios. Se postula que con otro nivel de precios, la PCR como método diagnóstico reemplace al menos el 15% de los exámenes microbiológicos de los laboratorios clínicos.

3.3 Oferta

Históricamente la oferta ha provenido de Estados Unidos y comunidad europea, en los últimos 10 años se ha diversificado a mercados emergentes asiáticos como Malasia e India.

No existen políticas que regulen los precios, sino más bien los precios solos están regulados por el mercado, de acuerdo a la oferta y la demanda.

De los kits de diagnóstico que utilizan PCR en tiempo real, desarrollados por alrededor de 5 compañías extranjeras, la única que está presente en Chile es Roche, la que posee unos 10 *kits* de detección de patógenos. Sin embargo, principalmente debido al alto precio del kit, frente a los desarrollos "in house" de los laboratorios, no son muy utilizados.

El resto de las compañías (ver tabla 5), no tienen representación en Chile y poseen un número limitado de patógenos desarrollados, son de alto costo, y son desarrollados para soluciones locales. Sus representantes en nuestro país no tienen la infraestructura necesaria para promover y vender sus productos.

Por lo tanto la producción de kits en Chile es así, aun más conveniente, ya que se ahorran los tiempos y costos de transporte; que elevan el precio final, buscándose un precio final un 20% menor a la competencia.

3.4 Demanda

Se encuentran registrados en el ISP, 177 laboratorios clínicos en la región metropolitana, 410 en el resto de las regiones y 74 bancos de sangre, correspondiendo el 12,4 % de las prestaciones a laboratorios de microbiología.

Al 2005 el diagnóstico molecular representaba el 0,5 %, con ventas por 118.300 millones de pesos, que corresponden a 61,8 millones de prestaciones con cargo al sistema de salud.

Según estimaciones de Bioscan S.A. en conjunto con los Jefes de los laboratorios de microbiología de los Hospitales Doctor Luis Calvo Mackenna y San Borja Arriarán, el diagnóstico molecular puede llegar a alcanzar un 15 % en 10 años, considerando la sustitución de los métodos actuales para los 40 patógenos presentados en el proyecto [5].

Luego, abarcando el 60% de la demanda, el mercado objetivo inicial, llegaría a aproximadamente 1.309 kits anuales, como caso base para el 2009.

Para proyectar la demanda calculó el crecimiento promedio entre los años 2001 y 2006 de las prestaciones de salud y se aplicaron promedios móviles del 2007 en adelante. El detalle de estas cifras se presenta en el cuadro Estimación de Mercado (Anexo 8.3) y está basado en estadísticas del Ministerio de Salud y la Superintendencia de ISAPRES.

Por otro lado existen mercados potenciales en los que no se ha centrado el proyecto con los de diagnóstico en animales y plantas de interés productivo. Mercados en los que actualmente no participa un Kit, pero en los cuales su uso es equivalente al actualmente utilizado o más aun no presenta sustitutos, como los desarrollados para salmones.

La demanda se encuentra representada principalmente por técnicas ya establecidas, como el cultivo y la serología. Pero, aunque las técnicas moleculares, y entre ellas la PCR en tiempo real, ocupan un lugar muy pequeño dentro del mercado de los análisis de patógenos humanos, estas técnicas son las de mayor crecimiento dentro de la industria del diagnóstico *in vitro*.

A su vez, dentro del diagnóstico molecular la detección de enfermedades infecciosas representan el 78% de los test de diagnóstico, el resto lo comparten test para el diagnóstico de enfermedades genéticas, cáncer y test de paternidad.

3.5 Análisis Interno

3.5.1 Fortalezas

El kit RT-PCR ofrece un diagnóstico rápido, preciso y altamente sensible.

El diseño y validación en Chile asegura un kit RT-PCR adecuado a las cepas bacterianas y virales locales.

La flexibilidad de la técnica de PCR en tiempo real y el poseer un grupo de investigación que genera continuamente nuevos productos o que sepa adaptar los existentes ante los requerimientos de los clientes, podrá mantener a la empresa continuamente vigente en el mercado. Lo que permitirá también abordar nuevos patógenos, marcadores de enfermedades genéticas y de cáncer otros mercados diagnósticos, como el vegetal y el animal.

3.5.2 Debilidades

El uso del kit RT-PCR está asociado a equipos de alto costo y aún no masificados en los laboratorios locales (termociclador en tiempo real).

Los sustitutos diagnósticos del kit RT-PCR, como el cultivo microbiológico y examen serológico, son un orden de magnitud más baratos.

El diagnóstico molecular aun no se ha incluido dentro de los programas subsidiados por Isapres ni FONASA.

Para los clínicos es una técnica que cambia la forma de diagnosticar y por ende la forma de enfrentar al paciente, el proceso de cambio al uso de la técnica es lento.

Otro aspecto es que la producción local no cuenta con un respaldo de marca, sin embargo la adopción de buenas prácticas de manufactura y otras certificaciones como las ISO 9000:2000, aseguran el cumplimiento de estándares internacionales de calidad.

3.5.3 Cadena de Valor

Actividades Primarias

Logística Interna: el almacenaje tanto de materias primas como de los kits a bajas temperaturas, determinará la disposición de una pieza fría en la que puedan mantenerse refrigerados. Por otro lado el control de inventario de materias primas y productos terminados toma relevancia por la caducidad y el control de pérdidas por obsolescencia.

Operaciones: el proceso productivo es simple, ya que es solo un mezclado de reactivos y su alicuotado. El área de importancia es la de control de calidad y de desarrollo de nuevos productos, es decir, la de investigación o alianzas para producir kits de diagnóstico para otras enfermedades. El control de calidad debe ser tal que permita alcanzar los estándares internacionales establecidos por buenas prácticas de manufactura aprobados por el ISP.

Logística Externa: la logística externa o de distribución se externalizará, considerando que será un gasto que asumirán los clientes, por concepto de despacho.

Marketing y Ventas: el área de marketing será de suma importancia, debido a que la compra del producto significará muchas veces un cambio en la forma de hacer diagnóstico para la mayoría de los laboratorios, por lo que será muy importante dar a conocer la técnica y todos sus beneficios.

Actividades de Apoyo

Adquisiciones: el área de adquisiciones deberá velar para que la cadena de suministro no se vea interrumpida, es decir deberá contar con un programa de planificación de compras de insumos, reactivos y embalaje, de acuerdo a la planificación de la producción.

Desarrollo de Tecnología: se contará con un grupo de bioquímicos, tanto para el área de control de calidad como de desarrollo de nuevos productos, además de un comité científico asesor que mantenga el nexo entre las necesidades diagnósticas y el desarrollo de productos que las suplan.

Manejo de Recursos Humanos: el equipo humano en el área de desarrollo es fundamental, de alta especialización en bioinformática y bioquímica, ya que serán quienes diseñen los partidores específicos para cada kit y los sistemas de control de falsos negativos y falsos positivos de las reacciones de amplificación de DNA.

Infraestructura de la Firma: la infraestructura deberá albergar bodegas de insumos y reactivos, las áreas de producción, control de calidad, investigación y de operaciones. Haciendo notar que tanto las zonas de producción como de control de calidad deberán cumplir con las normas de bioseguridad respectivas y en general la planta bajo buenas prácticas de manufactura, lo que implica estándares de higiene, orden y registro estrictos.

3.6 Análisis Externo

3.6.1 Oportunidades

No existen en el mercado kits de diagnóstico por RT-PCR para la mayoría de los patógenos presentados en este estudio.

Flexibilidad de expandirse a mercados vecinos con kits de paternidad, diagnóstico neo-natal y de análisis de mutaciones; además de diagnóstico animal y vegetal.

Políticas públicas de fomento a la innovación en biotecnologías, que subsidian costos en investigación y desarrollo.

Posibilidad de ser incluido para diagnosticar y hacer seguimiento de enfermedades AUGE.

3.6.2 Amenazas

Existe la amenaza de que las grandes cadenas farmacéuticas como Roche diagnostics puedan entrar al mercado local de forma más agresiva, desplazando a los kits nacionales al tener un mayor respaldo de marca. Sin embargo el actual nivel de precios que ofertan debiera disminuir más de un 50%.

3.6.3 Análisis de las Fuerzas de Porter

3.6.3.1 Intensidad de la Rivalidad entre Competidores: Media-Baja

Actualmente en el país no existen plantas productoras de kits de diagnóstico. La competencia está dada por diferenciación no tanto por precio, es decir, las preferencias de los consumidores están dadas por cuan bien se ajusta el kit a sus necesidades diagnósticas.

3.6.3.2 Amenaza de Nuevos Participantes : Media

La entrada de nuevos competidores está asociada al “know how” de la producción de un kit diagnóstico, es decir, al conocimiento de partidores, sondas y controles que permitan un diagnóstico preciso y debidamente validado por los organismos fiscalizadores nacionales.

Lo anterior es una barrera de entrada alta, excepto para las grandes farmacéuticas consolidadas internacionalmente con plantas productoras de kits de volúmenes de producción para el mercado mundial, como la Roche diagnostics en Estados Unidos inaugurada el año 2005, la mayor planta mundial con una producción de 140.000 kits mensuales, con economías de escala por la alta producción.

3.6.3.3 Amenaza de Sustitución: Media-Alta

Los sustitutos a un diagnóstico por PCR real time para algunas enfermedades son exámenes serológicos y microbiológicos, los que están ampliamente masificados en los laboratorios diagnósticos. Más aun su valor comercial es un orden de magnitud menor a un por PCR real time. Sin embargo, las mayores aplicaciones de PCR en tiempo real están en los patógenos de diagnóstico difícil o muy tardío por los métodos convencionales, no considerándose sustitutos en estos casos.

3.6.3.4 Poder de Negociación de los Proveedores: Baja

Existe gran variedad de proveedores de reactivos e insumos plásticos a nivel mundial, con precios de acuerdo a la calidad del producto, lo que hace que no puedan tener poder para negociar.

3.6.3.5 Poder de Negociación de los Compradores: Media

En general como se muestra en el análisis de mercado, hay una gran cantidad de potenciales compradores y comparativamente pocos productores, por lo tanto el poder de negociación de los compradores es medio. Cabe hacer notar, que se ha observado la tendencia en los últimos años de los laboratorios clínicos a agruparse, lo que generará un mayor poder negociador de precios con

sus proveedores. Por otro lado, actualmente los principales clientes se concentran en la región metropolitana y son: Clínica Alemana, Clínica Las Condes y el ICBM de la Universidad de Chile

Se concluye que la suma de las fuerzas perfila un mercado potencial interesante pero con requerimientos de capital altos y un suministro de materias primas acotado a la importación. Esto se debe principalmente a que aún no se han establecido plantas productoras de kits en el país. Sin embargo, la disponibilidad de materias primas nacionales es casi nula y existe también la posibilidad de que grandes productoras internacionales de kits se constituyan en el país, con la ventaja de tener el "know how" del negocio, y vasta experiencia en gestión y producción.

Por estas razones se deben concretar en el mediano plazo contratos u acuerdos de venta de kits con las principales clínicas que ya cuentan con el equipo necesario para utilizar el kit y así asegurar la venta de un porcentaje importante de su producción y posicionarse en el mercado nacional.

4 Modelos de Negocios Kits Diagnósticos

4.1 Laboratorio Diagnóstico

Actualmente el modelo de negocio con el que se efectúa diagnóstico clínico molecular en Chile, corresponde al de laboratorios tanto universitarios como privados que han desarrollado partidores y controles “in house”. El modelo consiste en la recepción y/o toma de muestras a los pacientes, la extracción del material genético del patógeno, la realización del examen a través de PCR en tiempo real y finalmente la entrega de resultados. Lo que requiere personal altamente calificado y equipos automatizados.

Sin embargo, sus protocolos no han sido validados y por tanto sus resultados no son comparables con los de otro laboratorio. Es así como surge como alternativa el adoptar protocolos comerciales validados de PCR en tiempo real como los de los kits producidos por la planta propuesta. Con este enfoque los laboratorios diagnósticos se convertirían en clientes de la planta productora de kits que se plantea en este trabajo y no en un modelo de negocio que compita con el presentado, pudiendo incluso ampliar la gama de exámenes prestados por sus laboratorios sin incurrir en los gastos de desarrollo asociados al diseño de partidores y sondas específicas.

Más aún los desarrollos propios que realizan los laboratorios pueden ser producidos industrialmente, i.e., externalizar la producción en gran escala de sus kits propios, con las siguientes ventajas:

- ▶ Baja Inversión de Capital
- ▶ Reducción del riesgo de la Inversión
- ▶ Evitar el paso por la curva de aprendizaje de un laboratorio sin experiencia en fabricación

4.2 Planta Productora

El modelo de negocio alternativo es el de la producción y venta de kits, con en el que hospitales, clínicas y laboratorios puedan realizar bajo un mismo protocolo validado, exámenes de diagnóstico molecular. Para esto se propone una planta productora de kits de diagnóstico, que supla la demanda agregada de diagnóstico molecular, a través de la puesta en el mercado de kits de diagnóstico por PCR real time para los 40 principales patógenos del país (ver Anexo 8.1).

Al igual que para un laboratorio externalizar la producción de sus propios desarrollos plantea amplias ventajas, a continuación se enumeran las ventajas y desventajas del modelo de construcción de una planta productora:

Ventajas

- ▶ Diseñar/Construir optimiza el proceso
- ▶ Experiencia en la fabricación permite mejoras para futuros productos
- ▶ Mayor control sobre calidad y temas regulatorios
- ▶ Permite flexibilidad en el desarrollo de estrategias de largo plazo para producción clínica y comercial
- ▶ Mantiene bajos costos de manufactura ("cost of goods")

Desventajas

- ▶ Gran inversión de capital
- ▶ Necesidad de tomar decisiones antes que la tecnología esté totalmente desarrollada
- ▶ Nuevas mejoras en tecnologías/procesos la pueden dejar obsoleta

La planta en evaluación pretende ser el lugar donde laboratorios externalicen la producción industrial de sus desarrollos.

Según Genetic Engineering News, de octubre 2003, el más del 56% de las empresas externalizan los grandes volúmenes de producción, frente a un 31% que realiza la producción "in-house" -

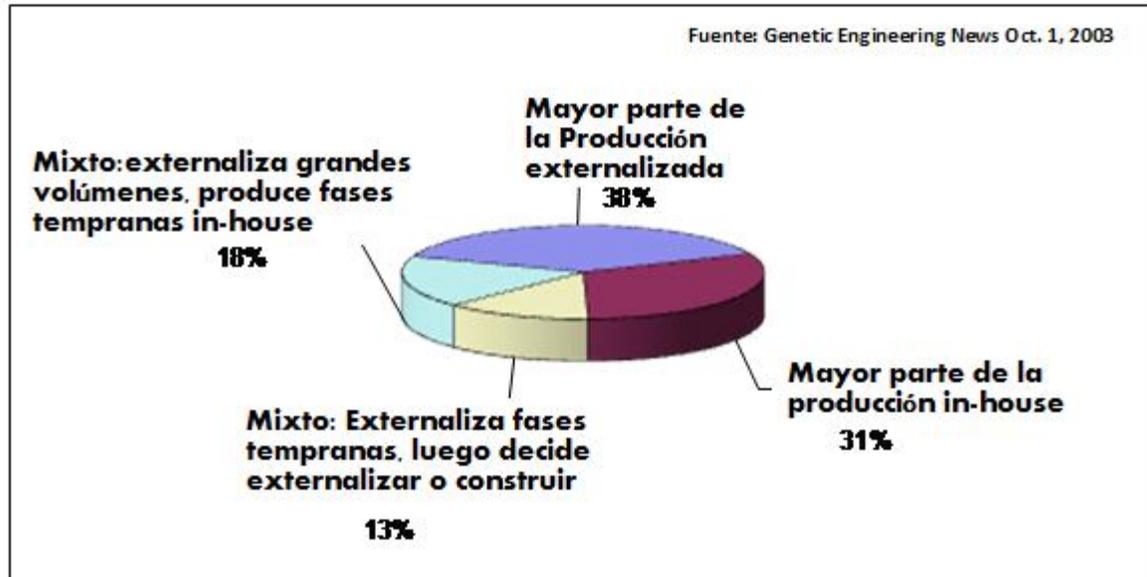


Figura 9: Gráfico de distribución del grado de externalización de la producción

A diferencia del modelo de negocio del laboratorio clínico, el modelo de venta de kits, no hace necesario considerar una etapa de procesamiento de muestras masivo, salvo para el control de calidad.

El proceso se puede dividir en 3 grandes etapas: la de mezclado, la de alicuotado y la de envasado.

La de mezclado consiste en la preparación de la mezclas de reacción en grandes volúmenes, también llamadas soluciones madres.

La etapa de alicuotado consiste en la dosificación de la mezcla madre que llevaran los kits individuales.

Por último la etapa de envasado consiste en reunir los reactivos en un envase que mantenga la aislación térmica necesaria a bajas temperaturas.

4.2.1 Descripción del Proceso Productivo

A continuación se describen las etapas productivas del proceso de fabricación de kits de diagnóstico, desde la llegada de los insumos necesarios hasta su despacho (ver Figura 10).

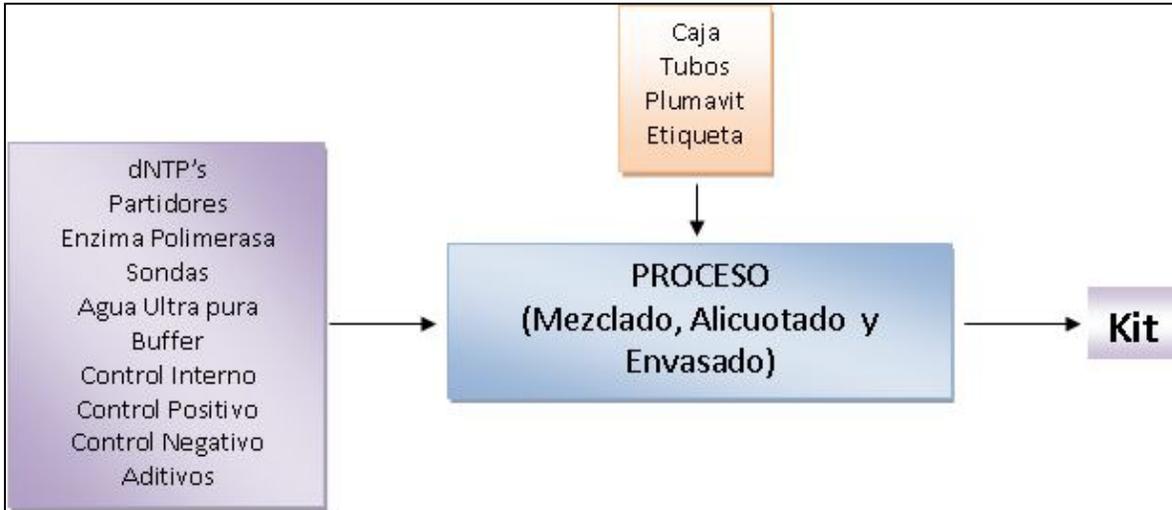


Figura 10 Diagrama de Bloques del Proceso de Producción de kits

Transporte de Reactivos: transporte bajo cadena de frío de reactivos termosensibles como partidores de PCR y sondas marcadas.

Transporte de Insumos: transporte de insumos plásticos para preparar y envasar reactivos del kit, tales como microtubos y puntas de micropipetas.

Transporte de Fungibles embalaje: cajas de cartón, papel etiquetas.

Preparación de Reactivos: Comprende la resuspensión de partidores y sondas liofilizadas y la producción de controles positivos e internos.

Dosificación y carga de reactivos e insumos: etapa en la que se programa al equipo para hacer la mezcla de los reactivos, de acuerdo a las concentraciones optimizadas para cada kit. Previamente se cargan tanto reactivos como microtubos y puntas de micropipeta.

Mezclado: proceso de preparación de "solución madre" del kit programado en la etapa anterior.

Alicuotado: proceso de llenado de tubos de acuerdo al número de reacciones en que se comercializará cada kit.

Sellado: etapa en la que se tapan los tubos previamente llenados.

Embalaje: consiste en el armado de la caja del kit y donde se incluirán los tubos con los reactivos y el inserto con el protocolo para su uso.

Etiquetado: etapa en la que se asigna a cada kit el rótulo con su contenido, fecha de elaboración, expiración y número de lote.

Despacho: corresponde a la etapa en donde se verifica el inventario, se elabora la factura y se envía el producto manteniendo la cadena de frío.

El diagrama de flujo de la planta productora de kits se muestra en la Figura 10.

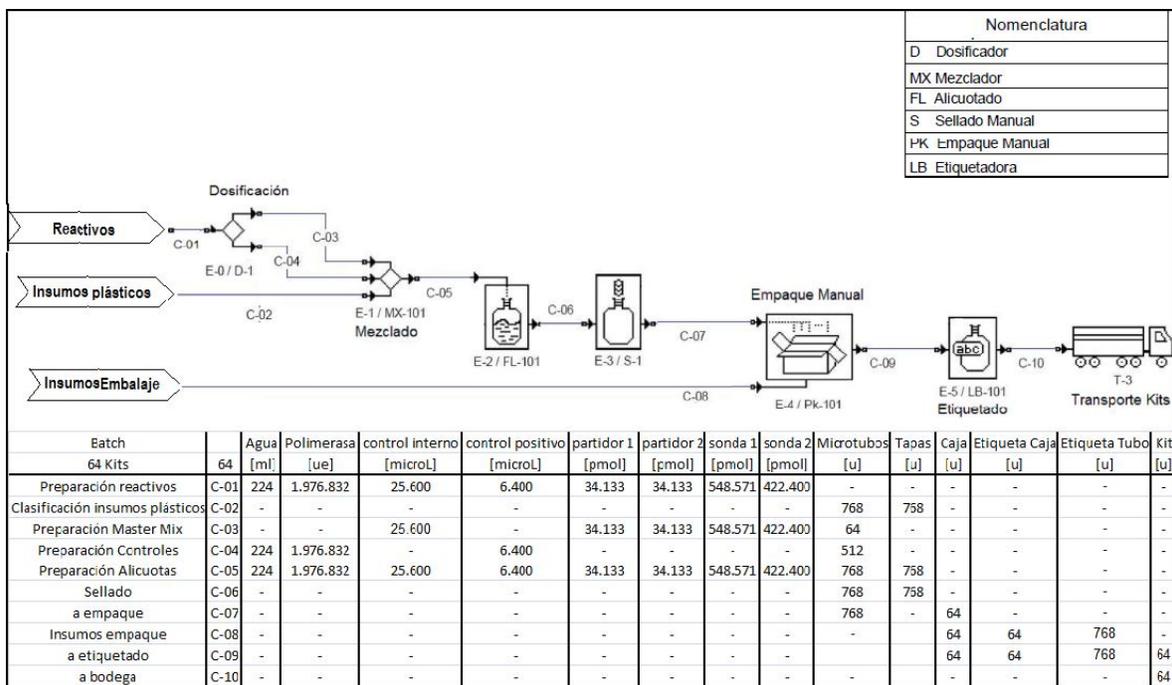


Figura 11: Flowsheet de la Planta productora de kits.

4.2.2 Requerimientos sanitarios

Se requieren medidas de bioseguridad para evitar la contaminación del producto, estas medidas son la de filtrar el aire de entrada y de salida, preparar los controles bajo campana de flujo laminar, uso de guantes, delantal, gorra y mascarilla por parte del personal de laboratorio y en general mantener el orden y la higiene del lugar de trabajo.

4.2.4 Equipos e infraestructura

Equipos Producción:

- 1 Computador
- 1 Robot mezclador, con filtro EPA y ultravioleta. Marca Corbett, modelo Cas 1200 de 1 canal (punta)(ver Figura 13).
- 1 Etiquetadora para tubos y cajas

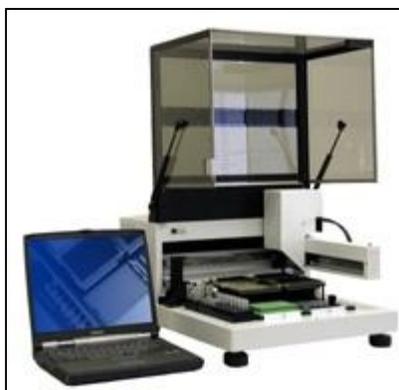


Figura 12: Robot de mezclado y alicuotado, modelo CAS 1200 de Corbett

Equipos Almacenamiento de Reactivos:

- Ultrafreezer: 500 L , a -80 °C

Equipos Almacenamiento de Kits:

- Ultrafreezer: 500 L , a -80 °C

Equipos Laboratorio de Control de Calidad:

- 3 termocicladores en tiempo real: Corbett 600 (ver Figura 14), LigthCicler de Roche y Applied 7500.
- 3 computadores

- insumos plásticos: microtubos de 1,5 mL y puntas para micropipeta de 50 y 200 microl
- Campana de Flujo Laminar
- Centrifuga
- Generador eléctrico
- Estabilizador de voltaje
- Sensores de temperatura y alarmas



Figura 13: Termociclador en tiempo real marca Corbett

4.2.4 Layout

El Layout de las instalaciones, considera además de las áreas de producción, control de calidad y bodegas, a las oficinas de operaciones y planificación de la producción, de marketing y ventas y de investigación y desarrollo. En total suman un área de 525 m², con 15 metros de profundidad por 35 de ancho.

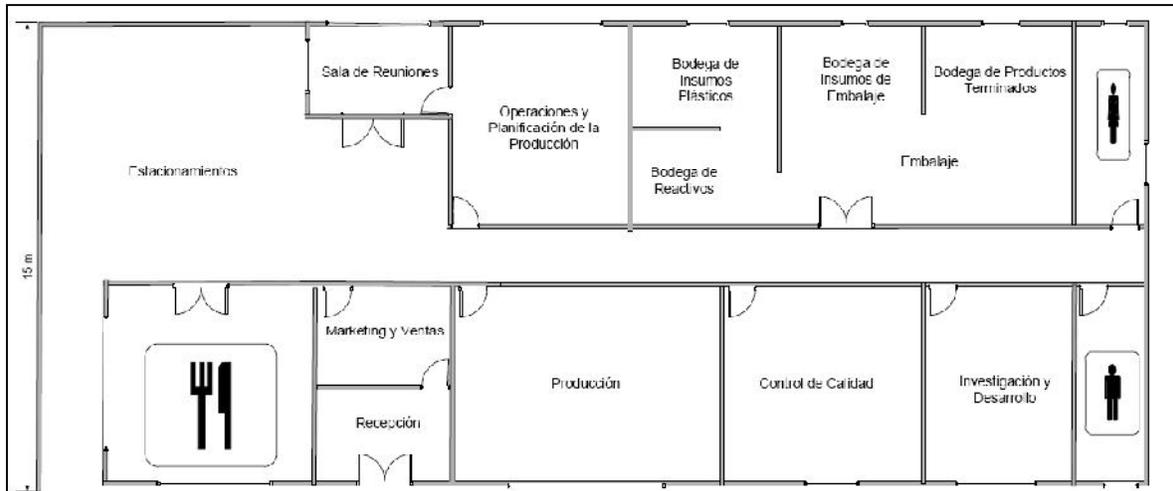


Figura 14: Layout Planta Productora Kits de Diagnóstico, 15 x 35 m.

Para determinar los requerimientos de infraestructura del laboratorio de control de calidad se recurrió a un manual de bioseguridad de laboratorio [15], en que de acuerdo a los procedimientos a efectuar se determinó que se requiere un laboratorio de contención de nivel II. (ver Figura 16).

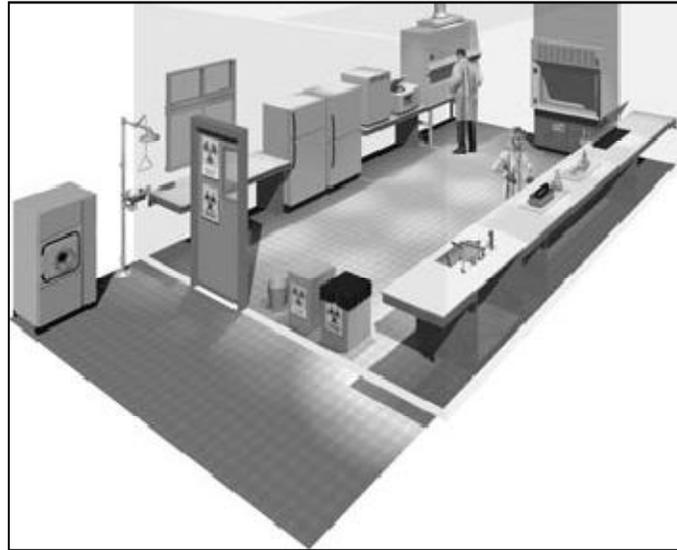


Figura 15: Laboratorio típico del nivel de bioseguridad 2. (Ilustración amablemente cedida por CUH2A, Princeton, NJ. EE.UU).

De acuerdo al manual los procedimientos que pueden generar aerosoles se deben efectuar dentro de una cámara de seguridad biológica, las puertas se mantienen cerradas y llevan las debidas señales de riesgo biológico y los residuos potencialmente contaminados se separan del circuito general de residuos.

4.2.5 Requerimientos Organizacionales

Es necesario personal calificado, especialmente en el área de control de calidad, de acuerdo a buenas prácticas de manufactura (GPM). Por lo que se requiere además de los técnicos que efectúan la producción y el control de calidad, de supervisores a cargo de generar procedimientos de trabajo y velar para que éstos se cumplan.

Tabla 6: Cargos, funciones y calificaciones del personal mínimo de la planta

Área	Cargo	Funciones y calificaciones
Producción	Jefe de Producción	Bioquímico, de los procedimientos y protocolos de acuerdo a buenas prácticas de manufactura.
Producción	Laboratorista	Técnico de laboratorio encargado de programar el equipo mezclador, cargar/descargar microtubos y reactivos.
Producción	Empacador	Capacitado para embalar y etiquetar los kits.
Operaciones	encargado	Ing. Civil en biotecnología, a cargo de programar la producción de acuerdo a la demanda de los kits y asegurar el cumplimiento de metas.
Marketing y ventas	encargado	Responsable de la difusión en clínicas y hospitales, entrega de muestra gratis y venta de los kits.
Control de Calidad	Jefe de laboratorio	Bioquímico, supervisor del área de producción y control de calidad
Control de Calidad	Laboratorista	Técnico de laboratorio a cargo de realizar los análisis.
Asistencia técnica	encargado de investigación y desarrollo	A cargo de optimizar los kits y generar nuevos productos, para la detección tanto de patógenos en humanos como en plantas y animales.
Operaciones	Recepcionista	A cargo de recibir insumos y gestionar los despachos.

4.2.6 Requerimientos de Comercialización

Para la utilización de los kits es necesario que el laboratorio cuente con un termociclador en tiempo real y un computador en el que se registren los datos. Dichos equipos actualmente no están masificados en los laboratorios de microbiología clínica, es por esto que con miras a hacer más atractivo la inversión en equipos de PCR en tiempo real, se pretenden producir una amplia gama de kits de diagnóstico (para 40 patógenos) y así prorratear el gasto del equipo entre más exámenes realizados.

Fuera de la acción promocional realizada por ventas y el soporte técnico de los especialistas, como el modelo de negocio es similar al de la industria farmacéutica y por lo tanto las políticas de marketing, serán similares se sugiere realizar publicidad en revistas especializadas, mailings, folletería, participación en congresos médicos de las especialidades de infectología, respiratorio, ginecología, pediatría, laboratorio clínico y microbiología médica. Además de visitantes médicos que entreguen de muestras gratuitas.

Se sugiere también alianzas con Isapres y FONASA, para la incorporación de esta forma de diagnóstico a las subsidiadas por los programas de salud.

4.2.7 Estimaciones de Ingresos y Costos

4.2.7.1 Ingresos

Los ingresos están asociados a las ventas de los kits, bajo los siguientes supuestos:

- No hay mermas en la producción
- Todo lo que se produce se vende
- De acuerdo a las estimaciones de mercado realizadas, el mercado potencial el año 2009 alcanzaría a las 218.000 prestaciones anuales. Considerando que del 12,4 % de las prestaciones de microbiología un 2% correspondería a las potencialmente reemplazadas por PCR en tiempo real (ver Anexo 8.3).

- Así, el mercado potencial para el primer año queda en 218 mil prestaciones anuales, de los cuales se pretende abarcar un 60%.
- Ahora pues, si se considera que un kit se comercializará en un formato de 100 reacciones cada uno, entonces la producción anual de kits para el año 2009 será de 1.309 (ver Anexo 8.3).

4.2.7.2 Gastos Operacionales u Operational Expenditure, OPEX

El gasto variable en reactivos se detalla en la Tabla 6, se utilizaron nombres genéricos para los costos pero su detalle se encuentra en partes anteriores (ver 1.1.5 Descripción del producto y Tabla 3)

Tabla 7: costos en reactivos por kit.

Contenido	Costo por kit [€]
Reactivo 1	742
Reactivo 2	400
Reactivo 3	400
Reactivo 4	6.429
Reactivo 5	4.950
Reactivo 6	11
Reactivo 7	23.166
Reactivo 8	11
Total Reactivos	36.108

De acuerdo a los requerimientos de recursos humanos presentados en puntos anteriores se elaboró la Tabla 6, en la que se indican los costos anuales de cada uno de los recursos humanos involucrados.

Tabla 8: Gastos Operacionales en recursos humanos

Cargo	Costo Total Anual [€]
Encargado de Producción	30.000.000
Operaciones y planificación	30.000.000
Marketing y Ventas	30.000.000
Bioquímico Investigación y Desarrollo	16.800.000
Jefe Laboratorio Control de Calidad	14.400.000
Técnico de Laboratorio Producción	7.200.000
Técnico de Laboratorio Control de Calidad	7.200.000
Secretaria	6.000.000
Total [€]	141.600.000

Como se detalló en partes anteriores, el kit consiste en una caja etiquetada que contiene 4 tubos rotulados con los distintos reactivos necesarios para realizar el diagnóstico, cuyos costos se muestran en la tabla a continuación.

Tabla 9: Costos de embalaje por Kit

	Unidades por Kit	Precio unitario	Total Kit
Caja c/cuna	1	425	425
Etiqueta caja	1	88	88
Etiqueta tubo	4	13,5	54
Microtubos	4	18	72
Total			639

4.2.7.3 Inversión o Capital Expenditure, CAPEX

Los equipos enumerados en el punto 4.2.4, fueron cotizados en el área de distribución Bioscan S.A., cuyo detalle se muestra en la Tabla 9, en pesos chilenos, con un costo total de \$123 millones de pesos aproximadamente.

Tabla 10: Inversión en Equipos

Equipo	Costo [Ch\$]
Ultrafreezer -80°C	6.000.000
Robot Mezclador	23.253.450
Etiquetadora	200.000
Freezer -20°C	3.200.000
Freezer -20°C	2.880.000
Centrífuga de mesa	3.194.000
Vortex	332.800
Incubadora	998.000
Pipetas juego de 3	320.000
Termociclador TR Corbett	24.570.000
Termociclador TR Applied	25.000.000
Termociclador TR Roche	26.000.000
Campana de flujo laminar	1.331.000
Cabinas PCR	1.799.172
Autoclave	671.000
Baño termoregulado-Block	604.800
Agitador orbital	756.000
Computador	1.800.000
Total Equipos	122.910.222

De acuerdo al diseño del Layout, se considerará el arriendo de 525 metros cuadrados en instalaciones a 0,35 unidades de fomento el metro cuadrado.

4.2.7.4 Gastos de Preinversión

Como gastos de preinversión se consideran los de desarrollo de la tecnología o “know how”, lo que comprende el diseño de partidores y sondas específicas para cada patógeno, la optimización de la reacción de PCR en tiempo real y la validación estadística de la metodología ante el ISP. Todo lo anterior para los principales 40 patógenos y para las 3 principales marcas de termocicladores. Tomando como referencia el proyecto presentado por Bioscan para tal fin [5], estos gastos ascienden a los \$391.511.000.

4.2.7.5 Gastos de Puesta en Marcha

Los gastos de puesta en marcha se calcularon como los gastos en materias primas y personal, necesarios para 2 meses de producción en marcha blanca, en periodo de aprendizaje y optimización de procesos.

Tabla 11: Gastos de Puesta en Marcha

Costo	Factor Utilizado	[\$]
Materias Primas	2 meses	10.641.169
Salarios	2 meses	23.600.000
Total Puesta en Marcha		34.241.169

4.2.7.6 Capital de Trabajo

Se consideró para el cálculo del capital de trabajo el criterio que se refiere a los gastos de operación, el que contempla solventar los gastos de materias primas, reactivos, almacenamiento y mano de obra, durante el período en el que aun no hay ingresos por ventas [16]. En este caso, por crédito a 60 días (ver Tabla 11).

Tabla 12: Capital de Trabajo

Costo	Factor Utilizado	[\$]
Materias Primas	2 meses	10.641.169
Inventario en Materias Primas	10% del costo de materias primas	6.384.702
Inventario de Materiales en Proceso	1% del costo de materias primas	638.470
Inventario de Productos Elaborados	5% del costo de materias primas	3.192.351
Salarios	2 meses	23.600.000
TOTAL CAPITAL DE TRABAJO		44.456.692

4.2.7.7 Flujo de Caja

Con la estimación de costos e inversiones anteriores se realiza el flujo de caja para un horizonte de evaluación de 10 años, considerando un caso base de 1.309 [kits/año] de producción y un precio de venta de \$336.549 el kit, el primer año (ver Anexo 8.4). Los ingresos por venta están bajo el supuesto de que todo lo que se produce se vende. Los valores están expresados en miles de pesos chilenos. La depreciación se calculó linealmente a 5 años sobre los equipos. A continuación se muestra la situación financiada con capital propio, es decir sin deuda.

Tabla 13: Flujo de Caja para un horizonte de 10 años

ITEM / AÑOS	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
INGRESOS												
Producción Promedio (Kits/Año)		1.309	1.453	1.618	1.785	1.978	2.198	2.446	2.721	3.027	3.372	
Precio Promedio Equivalente (\$/Kit)		336.549	316.356	297.375	279.533	262.761	246.995	243.537	240.128	236.766	233.451	
INGRESOS TOTALES(M\$)		440.604	459.737	481.166	498.903	519.663	542.938	595.580	653.426	716.684	787.306	
EGRESOS												
Costos Fijos de Producción		-149.789	-152.706	-155.681	-158.716	-161.812	-164.969	-168.190	-171.475	-174.825	-178.243	
Costos Variables de Producción		-63.847	-70.872	-78.910	-87.041	-96.450	-107.202	-119.266	-132.707	-147.621	-164.471	
Depreciación		-24.582	-24.582	-24.582	-24.582	-24.582	0	0	0	0	0	
EGRESOS TOTALES		-238.218	-248.160	-259.173	-270.339	-282.844	-272.171	-287.455	-304.182	-322.447	-342.714	
UTILIDAD ANTES DE IMPUESTO		202.386	211.577	221.993	228.564	236.819	270.767	308.124	349.244	394.237	444.592	
Impuesto a las Utilidades (17%)		-34.406	-35.968	-37.739	-38.856	-40.259	-46.030	-52.381	-59.371	-67.020	-75.581	
Utilidad Después de Impuesto		167.980	175.609	184.254	189.708	196.560	224.736	255.743	289.872	327.217	369.011	
Más Depreciación		24.582	24.582	24.582	24.582	24.582	0	0	0	0	0	
INVERSIONES PARA:												
- Preinversión		-391.511										
- Puesta en marcha		-34.241										
- Equipos		-122.910										
- Capital de Trabajo para la Prod.		-44.457									44.457	
RECUPERACION DE LA INVERSION		-593.119	-400.557	-200.366	8.470	222.760	443.902	668.638	924.381	1.214.254	1.541.470	2.988.608
FLUJO NETO CAJA(M\$)		-593.119	192.562	200.191	208.836	214.290	221.142	224.736	255.743	289.872	327.217	1.447.138
RESULTADOS												
T.I.R.		36%										
V.A.N. (12%), M\$		1.079.270										
Tasa de Descuento		12%										

El resultado de la evaluación arroja una tasa interna de retorno del 35,74% y un valor presente neto de \$ 1.079 millones. Recuperándose la inversión al tercer año.

La evaluación se realizó bajo los siguientes supuestos:

- Las ventas están estimadas según la información recolectada en el cuadro Estimación de Mercado (Anexo 8.3) para prestaciones de laboratorios clínicos, basado en la información entregada por el Ministerio de Salud y la Superintendencia de Salud.
- La proyección se realizó en base a los crecimientos promedios de los últimos años, del 2001 al 2006, ya que las clasificaciones se modificaron el año 2000, con lo cual las cifras no son comparables hacia atrás.

- La cifra promedio del peso de los laboratorios de microbiología dentro del total de las prestaciones de los laboratorios clínicos para 3 años es de 12,4%, considerándose un 2% en reemplazable por PCR en tiempo real como mercado potencial.
- No se consideran ventas de exportación y ventas que vengan del desarrollo de nuevos patógenos o marcadores moleculares. Sólo se proyecta en el flujo lo correspondiente a una participación de mercado nacional del 60%.
- Se considera la contratación completa del personal al momento de partir, con rentas que reajustan 2% al año en términos reales.

Las inversiones al inicio de la etapa de comercialización del proyecto consideran los gastos de preinversión, puesta en marcha, capital de trabajo y compra de equipos y la adecuación del laboratorio y oficinas.

4.2.7.8 Análisis de Sensibilidad

Haciendo variar los ingresos por ventas proyectados, se obtiene una correlación lineal con la variación del VAN (12%), encontrando de dicha variación que para ventas un 34% menores a las proyectadas el VAN se hace negativo. Cabe hacer notar que la variación en los ingresos por ventas se ven afectados por cambios en los precios de venta del kit, variaciones en las metas de producción y/o mermas en las ventas, la suma de todo lo anterior, puede variar los ingresos totales hasta en un 34% del valor proyectado para que el proyecto siga siendo rentable.

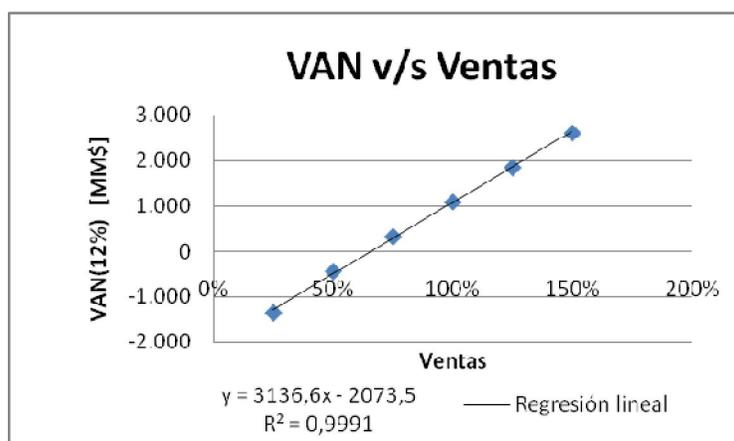


Gráfico 1: Sensibilidad del VAN frente a variaciones en las ventas proyectada

Al hacer similar ejercicio con los costos tanto variables como fijos, se observa que aun habiendo incrementos en el doble de lo proyectado en los costos, el proyecto aun sigue siendo rentable. En particular, los costos variables deben aumentar en un 291%, casi un triple, para hacer el VAN(12%) nulo (ver Gráfico 2).

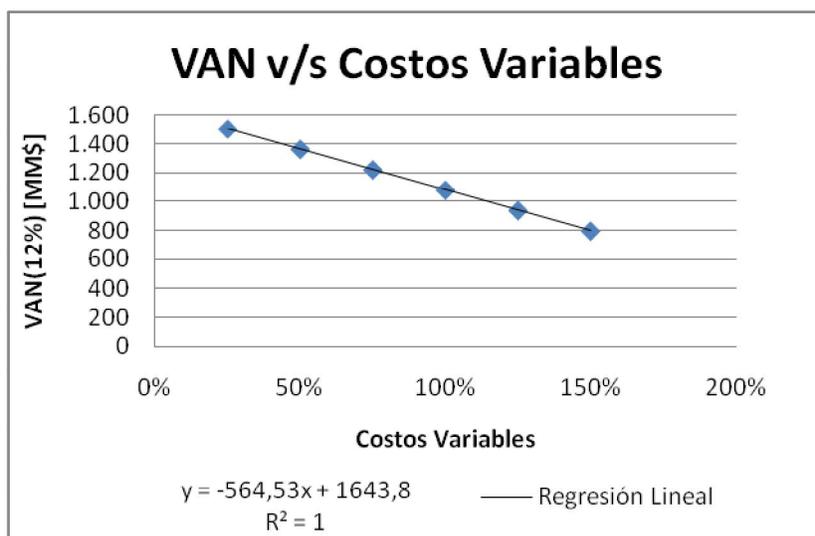


Gráfico 2: Variación del VAN frente a cambios en los costos variables

De la regresión lineal efectuada, cuya ecuación se muestra en el Gráfico 3, se desprende que los costos fijos deben variar un 224%, para hacer el VAN (12%) cero, lo que en otras palabras dice que el proyecto aun sigue siendo rentable con un nivel de costos fijos del doble de lo proyectado.

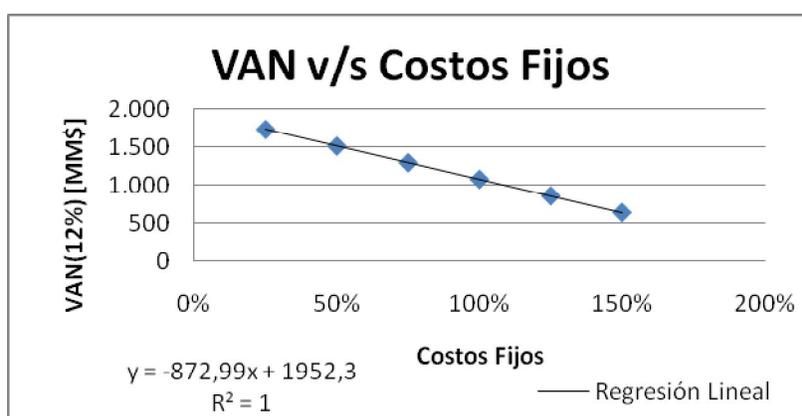


Gráfico 3: Sensibilidad del VAN ante cambios en los costos fijos.

5- Discusiones

El precio del kit se fijó un 20% por debajo de los precios de los actuales competidores, de manera de fomentar su compra (ver Anexo 8.4: Precios Kits de referencia).

El estudio de mercado y las proyecciones de oferta y demanda se realizaron en un escenario económico favorable, muy distinto al que se avecina como consecuencia de la crisis de los mercados financieros liderada por EE.UU, lo que hace pensar en expectativas de crecimiento menores en el sector a las previstas originalmente.

Para todos los efectos de conversión de monedas se consideró, dada la volatilidad actual del precio del dólar, 600\$/US\$, cuya variación puede afectar los valores de costos de equipos y reactivos importados.

Sin embargo como resguardo se mantuvo constante en los 10 años de evaluación el porcentaje de las prestaciones correspondientes a PCR en tiempo real en un 2 %.

6- Conclusión

Se revisaron las herramientas de diagnóstico en uso y se determinaron las amplias ventajas de PCR en tiempo real, por sobre los métodos de cultivo y los ensayos serológicos. Éstas son, mayor rapidez, sensibilidad y especificidad.

Dentro de las fortalezas, la flexibilidad de la técnica de PCR en tiempo real y el poseer un área de investigación y desarrollo que genera continuamente nuevos productos o que sepa adaptar los existentes ante los requerimientos de los clientes, podrá mantener a la empresa continuamente vigente en el mercado. Lo que permitirá también abordar nuevos patógenos, marcadores de enfermedades genéticas y de cáncer otros mercados diagnósticos, como el vegetal y el animal.

Dado que la oferta actual de kits es de países extranjeros, se plantea que la producción de kits en Chile, es aun más conveniente, ya que se ahorran los tiempos y costos de transporte que tienen los productos importados; que elevan el precio final.

De la legislación vigente en materia de dispositivos médicos, se determinó que el kit de diagnóstico se cataloga en los de tipo II, al ser extracorporal de diagnóstico in vitro.

Por otro lado de la adopción de buenas prácticas de manufactura, se diseñó de manera de cumplir con las de carácter imprescindible y necesarias para la obtención de la autorización sanitaria del Instituto de Salud Pública (ISP).

De acuerdo con el estudio de mercado realizado y las proyecciones para las prestaciones de exámenes de diagnóstico de FONASA e Isapres para 2009, se determinó el nivel de producción inicial en 7000 kits anuales de 100 reacciones cada uno.

El tamaño de la planta se definió de acuerdo a los requerimientos de producción y almacenamiento de materias primas y producto terminado, los que corresponden a un total de 525 m².

El diagnóstico local sobre la posibilidad de su realización para el año 2009 es favorable, con un valor presente neto (12%) a 10 años es de \$1.079 millones, recuperando el capital invertido al tercer año.

Como estrategias de comercialización se proponen las del mercado farmacéutico como son, visitantes médicos, entrega de muestras gratuitas y la participación y difusión en congresos y seminarios del área.

Los canales de distribución del kit serán de acuerdo a un modelo de negocio que integra la venta, arriendo o entrega del termociclador en comodato, ya que es necesario para la utilización del kit de diagnóstico.

7- Referencias

1. Eliminar obstáculos al desarrollo saludable. Informe sobre las enfermedades infecciosas. Documento WHO/CDS/99.1. Organización Mundial de la Salud. Ginebra.1999.
2. Consulting. Hbs quarterly. Molecular Diagnostics - Revolution or Hype. Medica/RSNA. 2004.
3. Méndez-Álvarez, Sebastián, Pérez-Roth, Eduardo. La PCR múltiple en microbiología clínica. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 2004; 22(3):183-92.
4. Whelen A., Persing D. The role of nucleic acid amplification and detection in clinical microbiology laboratory, *Annu. Rev. Microbiol.* 1996 50:349-73.
5. Proyecto Innova-Chile N°206-5052, Kits de Diagnóstico molecular para detectar los 40 principales patógenos humanos mediante PCR en tiempo real. Bioscan S.A. 2004.
6. Guía para las inspecciones de orden general a los establecimientos sometidos a control sanitario por el Instituto de Salud Pública de Chile. ISP.1999.
7. Instituto de Salud Pública. Marco Regulatorio para dispositivos médicos. Primera edición. Santiago. 2000. 117 p.
8. Portal del Instituto de Salud Pública. <www.ispch.cl> [en línea][29/11/2008]
9. Portal de la Comisión Nacional de Medio Ambiente, CONAMA. <<http://www.conama.cl/portal/1301/article-39490.html>>.
10. Portal del Sistema Nacional de información Ambiental, SINIA. <<http://www.sinia.cl/1292/article-37936.html>> [en línea]
11. Higuchi, R., Fockler, C., Dollinger, G., and Watson, R. 1993. Kinetic PCR: Real time monitoring of DNA amplification reactions. *Biotechnology* 11:1026–1030.
12. PCR Applications Manual. Roche Diagnostics GmbH. 3rd Edition. Alemania.
13. Molecular Diagnostics-Technologies, Markets and Companies. Jain PharmaBiotech. Marzo 2006. Research and Markets.
14. Portal de la Superintendencia de Salud. Boletines estadísticos de los años 2001 al 2007. <<http://www.supersalud.cl/documentacion/569/propertyvalue-1724.html>> [09/10/2008]
15. Manual de Bioseguridad en el Laboratorio. Tercera edición. Organización mundial de la Salud. Ginebra. 2005
16. Zomosa, Abdón, “Manual de Proyectos de Ingeniería Química”, Santiago de Chile, 1984.

8- Anexos

8.1 Listado de los 40 patógenos del proyecto kits

La producción fue diseñada para la elaboración de 40 kits distintos como caso base, para detectar los 40 patógenos de mayor incidencia en Chile, para los cuales PCR real time presenta las mayores ventajas [5].

Tabla 14: Listado de 40 patógenos involucrados en el proyecto kits.

Lista de patógenos	
Respiratorios RES	Transplante TRA
<i>Mycoplasma pneumoniae</i> (Mpn)	Adenovirus (ADV)
<i>Chlamydomphila pneumoniae</i> (Cpn)	Citomegalovirus (CMV)
<i>Legionella pneumophila</i> (Lpn)	Virus Epstein Barr (EBV)
<i>Bordetella pertussis</i> (Bpe)	HIV Hepatitis HIV
<i>Bordetella parapertussis</i> (Bpp)	Virus inmunodeficiencia adquirida (HIV)
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (Spn)	Virus de la hepatitis B (HBV)
Adenovirus (ADV)	Virus de la hepatitis C (HCV)
Virus influenza (FLU)	ETS
Virus parainfluenza (pFLU)	<i>Mycoplasma genitalium</i> (Mge)
Virus respiratorio sincicial (VRS)	<i>Mycoplasma hominis</i> (Mho)
Metapneumovirus (MPV)	<i>Ureaplasma parvum</i> (Upa)
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> (Mtu)	<i>Ureaplasma urealyticum</i> (Uur)
<i>Mycobacterium avium</i> (Mav)	<i>Chlamydia trachomatis</i> (Ctr)
Meningitis viral MEN	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> (Ngo)
Enterovirus (ENV)	<i>Gardnerella vaginalis</i> (Gva)
Virus herpes simplex 1 (HSV1)	EMBARAZO EMB
Virus herpes simplex 2 (HSV2)	<i>Streptococcus agalactiae</i> (Sag)
Virus Epstein Barr (EBV)	HONGOS HON
Citomegalovirus (CMV)	<i>Pneumocystis jirovecii</i> (Pji)
Virus herpes zoster (HZV)	<i>Fusarium</i> spp (Fus)
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (Spn)	<i>Aspergillus</i> spp (Asp)
<i>Haemophilus influenza</i> (Hin)	<i>Cryptococcus neoformans</i> (Cne)
<i>Neisseria meningitidis</i> (Nme)	<i>Candida</i> spp (Can)

8.2 Breve descripción de las enfermedades asociadas a los patógenos a detectar por los kits de diagnóstico

Enfermedades Respiratorias

Neumonía: es la tercera causa de muerte en la población chilena y comprende casi la mitad de los egresos hospitalarios por enfermedades respiratorias. Los principales patógenos involucrados en esta patología son: *Streptococcus pneumoniae*, virus parainfluenza 1 a 3, virus influenza A o B, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Legionella pneumophila* y *Haemophilus influenzae*. La mortalidad en pacientes ambulatorios es baja (1-5%), sin embargo, en aquellos que requieren hospitalización llega a ser entre un 10-25% y se eleva a 40% en los que ingresan a una unidad de cuidados intensivos.

Neumonía viral: infecciones respiratorias virales cuyos agentes causantes, directos o indirectos, son los siguientes:

Virus de la Influenza: es el virus más importante de los que provocan neumonía, pudiendo ser muy seria. Este virus puede provocar neumonía directamente y hacer susceptible de neumonía bacteriana.

Virus Respiratorio Sinsicial (VRS): principal causa de neumonía en niños y personas con daño del sistema inmune. Muchos niños son infectados con VRS en algún momento, pero frecuentemente es suave.

Parainfluenza: es el segundo virus más importante causantes de neumonías y bronquitis en niños y también causante de neumonías en ancianos y pacientes con daño en el sistema inmune.

Adenovirus: los adenovirus comúnmente no son problemáticos, aunque han sido implicados en el 10% de las neumonías en niños.

Metapneumovirus: es un virus recientemente descrito causante de enfermedades respiratorias. Es causante de neumonías y bronquiolitis. No se tienen cifras de su incidencia en Chile.

Coqueluche: Bordetella pertussis es el agente causal del coqueluche, una enfermedad infecciosa que tiene alta prevalencia en la población infantil no vacunada, casi un 90% de la mortalidad observada ocurre en los menores de un año y 75% de ella está constituida por los niños que no han alcanzado las tres dosis de inmunización necesarias para una adecuada protección contra Bordetella pertussis. Recientemente ha re-emergido en la población vacunada. Muchos adultos infectados con B. pertussis no tienen los síntomas típicos de coqueluche siendo mal diagnosticada y tratada. La enfermedad respiratoria causada por B parapertussis siendo menos frecuente, puede presentar casos severos. Esta es una enfermedad de notificación obligatoria.

Tuberculosis (TBC): enfermedad de curso progresivo y tendiente a la cronicidad, su agente causal es el Mycobacterium tuberculosis. Tiene distribución mundial y anualmente se estima que se infectan unos 16 millones de personas en el mundo de los cuales 7 millones desarrollan la enfermedad y otros 2 millones fallecen. En Latinoamérica y el Caribe ocurren casi 250.000 infecciones por año y fallecen 60.000 personas. En Chile la tasa de morbilidad es de poco más de 20/100.000 adultos y de menos de 3/100.000 niños menores de 5 años. No obstante el control de la enfermedad que hay en nuestro medio el alto número de pacientes crónicos e inmunocomprometidos hacen necesario mantener una estrecha vigilancia del problema. Esta es una enfermedad de notificación obligatoria.

8.3 Estimación de Mercado

En la Tabla 14 se muestran las proyecciones de mercado realizadas en base al número de prestaciones de exámenes de diagnósticos realizadas tanto por el sistema público (FONASA), como por el sistema de ISAPRES. Los datos fueron obtenidos de los boletines estadísticos anuales de FONASA y del sistema ISAPRES de los años 2001 al 2006. Del año 2007 en adelante se proyectaron las cifras con respecto al crecimiento de los últimos 5 años.

Tabla 15: Proyecciones de mercado para la producción de kits

	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
N°Prestaciones Exámenes Diagnostico								
Isapres [miles de prestaciones]	15.758	15.549	15.363	17.393	15.436	17.027	18.353	18.955
Sist.Público [miles]	41.628	42.840	43.216	45.308	47.249	49.733	54.562	60.600
Total Prestaciones	57.385	58.389	58.579	62.701	62.685	66.760	71.922	78.344
Crecimiento Prestaciones								
Isapres		-1,33%	-2,50%	10,38%	-2,04%	8,06%	2,51%	3,28%
Sis. Publico		2,91%	3,82%	8,84%	13,50%	19,47%	9,71%	11,07%
Factor Microbiología(*)	12,4%	12,4%	12,4%	12,4%	12,4%	12,4%	12,4%	12,4%
Factor PCR	2%	2%	2%	2%	2%	2%	2%	2%
Mercado potencial [miles]	142	145	145	155	155	166	178	194
Participación de Mercado	60%	60%	60%	60%	60%	60%	60%	60%
Mercado abordado [miles]	85	87	87	93	93	99	107	117
N° de kits 100 rxn	854	869	872	933	933	993	1.070	1.166

	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019
N°Prestaciones Exámenes Diagnostico											
Isapres [miles de prestaciones]	19.796	20.439	21.320	22.078	22.909	23.794	24.686	25.636	26.599	27.609	28.658
Sist.Público [miles de prestaciones]	68.186	77.223	87.420	97.867	110.001	123.932	139.665	157.238	176.827	199.036	224.098
Total Prestaciones	87.983	97.663	108.739	119.945	132.910	147.727	164.351	182.874	203.426	226.644	252.756
Crecimiento Prestaciones											
Isapres	4%	3%	4%	4%	4%	4%	4%	4%	4%	4%	4%
Sis. Publico	13%	13%	13%	12%	12%	13%	13%	13%	12%	13%	13%
Factor Microbiología (*)	12,4%	12,4%	12,4%	12,4%	12,4%	12,4%	12,4%	12,4%	12%	12%	12%
Factor PCR	2%	2%	2%	2%	2%	2%	2%	2%	2%	2%	2%
Mercado potencial [miles]	218	242	270	297	330	366	408	454	504	562	627
Participación de Mercado	60%	60%	60%	60%	60%	60%	60%	60%	60%	60%	60%
Mercado abordado [miles]	131	145	162	178	198	220	245	272	303	337	376
N° de kits 100 rxn	1.309	1.453	1.618	1.785	1.978	2.198	2.446	2.721	3.027	3.372	3.761

(*) Estimados en base a información del SNSS
Fuente: Boletines estadísticos Superintendencia de Salud y FONASA

8.4 Precios de Kits de Referencia

Para fijar el precio del kit, se buscaron en el mercado kits de diagnóstico para los patógenos del proyecto, promediando un precio por reacción efectiva de \$4.207 (ver Tabla 15). A este valor se le aplicó un 20% menos, quedando en \$3.365, y dado que el kit es para 100 reacciones, el precio final se fijó en \$336.549 para el primer año.

Tabla 16: Precios de Referencia Kits en el mercado.

KIT	Técnica	Unidades por Kit	Unidades efectivas	Precio Kit [\$]	Precio por rxn [\$]
Aspergillus Platelia	ELISA	96	80	385.120	4.814
Candida	Cultivo	25	25	89.760	3.590
Candida Platelia	ELISA	96	80	237.230	2.965
Chlamydia trachomatis	DFA	60	60	240.000	4.000
Cryptococcus Latex Agglutination Systems	LATEX	50	50	150.000	3.000
MycoplasmaFast Evolution 2	Cultivo	25	25	143.000	5.720
Parvovirus B19	ELISA	96	80	232.500	2.906
Pneumocystis carini	IFA	60	60	640.000	10.667
Toxo IgM Platelia	ELISA	96	80	170.000	2.125
Streptococo B	Cultivo	20	20	17.318	866
Chlamydia MIF IgM	Microinmunofluorescencia	120	120	239.500	1.996
Mycoplasma pneumoniae IgM	Serología	96	80	153.000	1.913
Legionella NOW	Inmunocromatografía	22	22	239.000	10.864
D3 DFA Metapneumovirus	ELISA	170	170	590.000	3.471
Promedio		74	68	251.888	4.207