

00524
91



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

CONSIDERACIONES GENERALES DE METODOS ANALITICOS
Y DE MUESTREO QUE DEBEN CONTEMPLARSE AL VALIDAR
UN PROCESO FARMACEUTICO

TRABAJO ESCRITO VIA CURSOS
DE EDUCACION CONTINUA
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
P R E S E N T A :
MARIA ELIZABETH LOPEZ JARA



MEXICO, D. F.



EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUIMICA

2003



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Jurado asignado:

Presidente GEORGINA MARGARITA MAYA RUIZ
Vocal MARÍA DEL SOCORRO ALPIZAR RAMOS
Secretario PEDRO SALVADOR VALADEZ ESLAVA
1er. Suplente EDUARDO JIMÉNEZ LEYVA
2do. Suplente ZOILA NIETO VILLALOBOS

Sitio donde se desarrollo el tema:

Facultad de Química UNAM-Coordinación de Extensión Académica, Educación Continua, Sede CU.

Asesor: PEDRO SALVADOR VALADEZ ESLAVA

Sustentante: MA. ELIZABETH LÓPEZ JARA



Two handwritten signatures are present. The first is a signature over a horizontal line, likely belonging to Pedro Salvador Valadez Eslava. The second is a larger, more stylized signature below it, likely belonging to Ma. Elizabeth López Jara.

CONTENIDO

Capítulo I

1 Introducción.....	1
2 Objetivo.....	2

Capítulo II

1. Antecedentes de validación de procesos.....	3
2. Conceptos Generales	3
2.1 Definición	4
2.1.1 Validación	4
2.2 Método Analítico	5
2.2.1 Conceptos	5
2.2.2 Revisión en Documentación Oficial Mexicana.....	5
2.2.3 Revisión en Documentos Oficiales Internacionales	7
2.2.4 Revisión en Documentos no Oficiales Internacionales	7
2.2.4.1 Q2A Validación de Métodos Analíticos	7
2.2.4.2 Validación de Métodos Analíticos	8
3. Consideraciones sobre Métodos Analíticos	9
- Clasificación de los Métodos Analíticos	10
- Categorías de Ensayo	12
- Revalidación	14
4. Consideraciones Generales y Teóricas sobre el muestreo	16
- Definiciones (Muestreo y Procedimiento de Muestreo).....	16
- Muestreo durante la validación de un Proceso Farmacéutico	21
- Planes de Muestreo sugeridos y tipos de Ensayo aplicados a cada muestra.....	24
- Muestreo de Validación de Limpieza	25
- Remuestreo	27

Capítulo III

1. Discusión	28
--------------------	----

Capítulo IV

1. Conclusión.....	30
2. Bibliografía	31

Capítulo I

Introducción

El objetivo de una compañía Farmacéutica es lograr que los medicamentos fabricados cumplan con las necesidades requeridas de calidad, eficacia, seguridad, pureza e inocuidad.

Para lograr éste objetivo se han realizado investigaciones farmacéuticas, en las cuales se han estudiado las variables involucradas en los procesos de fabricación, para facilitar su fabricación, conservar las propiedades de los principios activos y por lo tanto mantener y mejorar la calidad final del producto. Esta calidad se verifica mediante el uso de técnicas analíticas validadas que nos proporcionan resultados precisos y exactos, así mismo, por el empleo de procesos de fabricación validados.

El proceso de validación es un requerimiento común en los documentos regulatorios de buenas prácticas de manufactura de productos farmacéuticos (21 Code of Federal Regulations parts 210 y 211) y las regulaciones de buenas prácticas de manufactura de productos para propósitos médicos, (21 CFR parte 820). Asimismo, los estudios de validación constituyen una parte esencial de las Prácticas Adecuadas de Manufactura y deben efectuarse conforme a protocolos definidos de antemano.¹

Dentro de un proceso de validación tenemos que considerar: los procesos de manufactura, procesos de limpieza, equipos, sistemas mecánicos, procesos de empaque, métodos analíticos, sistema de control automático, instalaciones, materiales y personal.²

Validar no es simplemente escribir un protocolo que se debe aprobar por el área de Control de Calidad, ejecutarlo siguiendo las Buenas Prácticas de Manufactura y finalmente cerrar el reporte y documentar los resultados. Actualmente, el Ciclo de Vida de un proceso de validación es mucho más que eso. Pero, en términos generales, cada sistema, equipo, cada proceso va a tener su particularidad y la tendencia es tener todos los componentes para considerar que ese programa de validación está completo.³

¹ Guideline on General Principles of Process Validation; May 1987;
<http://www.fda.gov/cder/guidance/pv.htm>

² ³ Informacéutico Volumen 9 No.5 Noviembre 2002 de AFM

Por lo tanto, durante la validación de un proceso farmacéutico se deben evaluar cada una de las operaciones unitarias que constituyen el proceso de fabricación. Así, cada operación unitaria debe ser evaluada mediante las pruebas correspondientes (Físicas, Químicas o Microbiológicas según aplique) de tal manera que al final del proceso se alcancen los atributos de calidad establecidos; para ello se deben establecer los métodos analíticos a ser aplicados durante la validación del proceso y éstos deben ser aprobados, asimismo, las muestras tomadas durante cada operación unitaria si aplica deben ser representativas de acuerdo al tamaño de lote fabricado.

El tema central de éste trabajo es el ubicarnos en una etapa de los requisitos que se deben cumplir en un proceso de validación farmacéutico, el cual describirá **las consideraciones generales de los Métodos Analíticos y de muestreo que deben contemplarse al validarse un proceso farmacéutico**; esto se refiere a que tenemos que considerar que los métodos analíticos están validados y son los correctos a usar de acuerdo a las necesidades del cliente, no podemos tener un proceso validado si el método que se utilizó para analizar el producto no está validado y los procesos de muestreo deben considerar los factores a ser controlados, para que se aseguren la validez de los resultados de los ensayo.

El seleccionar cuales serán los puntos para validar un método así como los puntos de muestreo, depende generalmente de las necesidades de cada laboratorio y cliente, de la aplicación que tenga el método y de los requerimientos oficiales y/o internos.

Objetivo

Proporcionar una guía general para la selección adecuada de un método analítico que cumpla las necesidades del cliente, así como, hacer un adecuado muestreo durante la validación, de tal manera, que los resultados obtenidos sean confiables y respalden la validación del proceso farmacéutico.

Capítulo II

1. Antecedentes de Validación de Procesos ⁴

Los antecedentes históricos de un proceso de validación, se iniciaron en 1906, cuando el gobierno de los Estados Unidos confirmó las denuncias de adulteración en el envasado de carnes, creando la Food and Drug Administration (FDA) con la finalidad de controlar los alimentos y medicamentos.

Durante muchos años la regulación de la FDA en cuanto al control de los medicamentos, consistió únicamente en la toma y análisis de muestras de control, con la finalidad de verificar si estos cumplían con las especificaciones analíticas establecidas. Es decir, solo se hacían determinaciones acerca de la calidad, pero no se investigaba sobre los factores que podrían influir en la misma. De tal manera que en:

- 1978 Se incluyó la validación aplicada a un proceso en las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) por la FDA
- 1987 Se emitió la norma sobre Validación de la FDA
- 1994 Guía sobre la Inspección de Formas sólidas orales puntos pre/post aprobatorios para el desarrollo y su validación, emitida por la FDA
- 1996 CFR 21 parte 211, se adiciona una nueva subparte, la subparte L sobre validación. La sección 211.220 considera la validación de los procesos Farmacéuticos (aún está como propuesta, todavía no ha sido aprobada)
- 1978 En México se realiza el primer taller de validación por parte de la Asociación Farmacéutica Mexicana (AFM)
- 1998 Norma Oficial Mexicana NOM-059-SSA 1-1993 Buenas Prácticas de Fabricación para establecimientos de la industria Químico Farmacéutica dedicados a la fabricación de medicamentos (15/Enero/1999).
Punto 9.11.1 Los procesos de producción deben ser validados en base a protocolos.

En términos generales, la validación está determinada por las regulaciones y la reglamentación.

2. Conceptos generales

El término validación se ha empleado para definir:

- Procesos de fabricación
- Métodos Analíticos

⁴ Memorias del Diplomado Administración Farmacéutica impartido de Septiembre a Diciembre de 2002

- Certificados de proveedores
- Sistemas de computación (software)
- Sistemas críticos (agua, aire acondicionado)

Se debe demostrar que el proceso, sistema o método cumple la función para la cual se diseñó.

2.1 Definición

2.1.1 Validación

La NOM-059-SSA1-1993 de Buenas Prácticas de Fabricación la define como:

La evidencia documentada que demuestra que a través de un proceso específico se obtiene un producto que cumple consistentemente con las especificaciones y características de calidad predeterminadas.

La FDA la define como:

El establecimiento de la evidencia documentada que provee un alto grado de seguridad de que en un proceso específico el producto se genera consistentemente con especificaciones y características de calidad predeterminadas.

La validación constituye un concepto general, que abarca todo el proceso de fabricación y control.

El término de validación desde el punto de vista de Control de Calidad se emplea para indicar el proceso empleado para establecer la calidad de un método y autorizar su uso en el laboratorio.

El laboratorio de Control Químico juega un papel muy importante en los procesos de Validación Farmacéutica ya que los datos reportados deben proveer la confianza de que los resultados fueron obtenidos y reportados usando métodos analíticos confiables de calidad.

Los métodos deben ser exactos, por la identidad entre el valor real y el resultado del análisis, deben ser precisos por la coincidencia entre los resultados analíticos de diferentes análisis de una misma muestra, deben ser reproducibles por la coincidencia de los resultados analíticos de una misma muestra analizada por diferentes analistas y laboratorios.

Así, el laboratorio debe usar métodos de ensayo, incluyendo métodos para muestreo, que satisfagan las necesidades del cliente y que sean apropiadas

para los análisis y calibraciones que realice. Deben usarse preferentemente los métodos publicados en normas internacionales, regionales o nacionales como farmacopeas. El laboratorio debe asegurarse de que usa la última edición vigente de una norma. Cuando sea necesario la norma debe ser complementada con detalles adicionales para asegurar su aplicación consistente.⁵

De acuerdo a lo anterior, se pretende establecer una propuesta sobre las consideraciones generales de los métodos analíticos y de muestreo para hacer una validación de proceso con éxito.

2.2 Método Analítico

Generalidades

2.2.1 Conceptos

- **Método Analítico**: Es la descripción de secuencia de actividades, recursos, materiales y parámetros que se deben cumplir, para llevar a cabo el análisis de un componente específico de la muestra.
- **Validación de Método Analítico**: Es el proceso por el cual se demuestra, por estudios de laboratorio, que la capacidad del método satisface los requisitos para la aplicación analítica deseada, es decir, cumple con su propósito.

Es tan importante el papel que juega un método analítico en la producción de medicamentos con calidad, así como validación de procesos que las regulaciones determinan la obligación de validar métodos analíticos.

2.2.2 Revisión de la Documentación Oficial Mexicana⁶

Iniciaremos con mencionar de manera general lo que es solicitado por cada una de las organizaciones de acuerdo a las reglamentaciones y que de alguna manera comenzamos a describir los requerimientos que debe cumplir un método para ser utilizado en un proceso de Validación Farmacéutico.

Por tanto, a manera de resumen se muestra a continuación los requerimientos solicitados en México y el extranjero en los cuales se menciona la necesidad de contar con métodos analíticos validados así como una guía mínima que nos indica que parámetros debe cumplir un método para considerarlo validado.

⁵ Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración; Norma Mexicana IMNC-NMX-IEC-IMNC-2000;ISO/IEC 17025: 1999

⁶ Guía de validación de Métodos Analíticos; Colegio Nacional de Farmacéuticos Biólogos; Editada 2002

Reglamento de Insumos para la Salud

Publicado en el diario oficial el 4 de febrero de 1998 referente a los establecimientos que se destinan a la fabricación de insumos establece lo siguiente:

Artículo	Contenido
15	Los establecimientos que se destinan a la fabricación de insumos, llevarán el control analítico de estos. Dicho control deberá incluir: III. La validación de las técnicas empleadas

Norma Oficial Mexicana NOM-059-SSA1-1993

Buenas Prácticas de Fabricación para establecimientos de la Industria Química Farmacéutica dedicados a la fabricación de medicamentos establece los siguientes puntos referentes a la validación de Métodos Analíticos.

Numeral de la norma	Contenido
9.11.3	Los métodos analíticos deben ser validados , de acuerdo con lo establecido en el apartado 9.12 "control del laboratorio analítico"
16.1.5	Se deben contar con métodos de análisis validados para productos a granel, producto terminado y materia prima en caso de no aparecer en cualquier farmacopea internacional ni en la FEUM.

Norma Oficial Mexicana NOM-164-SSA1-1998

Buenas Prácticas de Fabricación para Fármacos

Numeral de la norma	Contenido
16.1	Los controles de laboratorio e inspecciones deben apoyarse en normas, PNO's o manuales que contengan las especificaciones para garantizar la confiabilidad de sus resultados tales controles deben incluir: Validación de métodos analíticos utilizados por la empresa, no farmacopéicos o farmacopéicos que tengan desviaciones frente a la farmacopea de referencia.
16.1.5	

Norma Oficial Mexicana NOM-073-SSA1-1993

Estabilidad de medicamentos

Numeral de la norma	Contenido
5.5	<i>Cuando se cambie el método analítico durante el estudio de estabilidad, se deben demostrar que los dos métodos son equivalentes mediante el proceso de validación.</i>
5.10.2.3	<i>Información general, especificaciones y métodos analíticos: Información de linealidad, precisión, exactitud, reproducibilidad, repetibilidad, especificidad del método analítico indicativo de estabilidad.</i>
6	<i>Fármacos Para fines de registro de un medicamento con fármacos nuevos en México, el fabricante del medicamento debe presentar ante la Secretaría de Salud estudios de estabilidad acelerada y/o a largo plazo de tres lotes de (los) fármaco (s) efectuados por el fabricante de los mismos, utilizando métodos analíticos validados.</i>

2.2.3 Revisión en documentos oficiales internacionales

United States Food and Drug Administration (FDA)

1990 La conferencia de "validación de métodos analíticos": biodisponibilidad, bioequivalencia y estudios farmacocinéticos debe cumplir con la descripción del método. Reporte de validación, misma matriz para la validación de muestras, rango de concentración y curva estándar, estándares adecuados, exactitud y precisión.

United States Pharmacopeia

Refiere: Que se usen estándares propios (USP), son confiables y exactos. " el uso de métodos descritos en USP y NF... no requieren ser validados... simplemente hay que verificar su capacidad bajo las condiciones actuales de uso"

2.2.4 Revisión en documentos no oficiales internacionales

Internacional Conference on Harmonization (ICH)

2.2.4.1 Q2A Validación de métodos analíticos: contiene definiciones y terminologías. Paso 4 de la Guía de la Armonización tripartita adoptada en octubre de 1994 contiene:

- Características que deberán ser consideradas
- Colección de términos y definiciones aplicada a:

- Pruebas de identificación
 - Pruebas cuantitativas del contenido de impurezas
 - Pruebas de límites para el control de impurezas
 - Pruebas cuantitativas de la entidad activa en muestras de principio activo o medicamento u otro componente seleccionado en el medicamento
- excluye a:
- Pruebas de disolución
 - Determinaciones de tamaño de partícula, (características de eficiencia)
- Glosario: conceptos de Procedimientos analíticos, especificidad, exactitud precisión (Repetibilidad, precisión intermedia, Reproducibilidad), límite de detección y cuantificación, linealidad, rango y robustez.

2.2.4.2 Validación de métodos analíticos: las discusiones finales se tuvieron en Bruselas, en Julio de 1995.

En una extensión de las guías de validación de metodologías.

- Indica cuales son los datos que deberán presentarse.
- Recomendaciones que no deberán ser consideradas en absoluto, es decir, que otras pruebas ya aprobadas podrán ser aplicadas y aceptadas.
- Indica los requisitos para demostrar que un procedimiento es adecuado para su propósito.
- Menciona parámetros como:
 - Especificidad
 - Ensayos de pruebas de impurezas (cromatogramas, resolución de componentes, comparación de farmacopeas)
 - Linealidad (rango de estabilidad cruzada, análisis por regresión de mínimos cuadrados, mínimo 5 concentraciones)
 - Rango
 - Ensayo 80-120%
 - Impurezas: QL o 50% de 120% aprobado
 - Uniformidad de contenido 70-130%
 - Disolución \pm 20% sobre el rango especificado.
 - Exactitud
 - Principio activo (material de referencia, comparación con varios procedimientos, comprobar con precisión, linealidad y especificidad.)
 - Medicamento (adición del principio activo al medicamento, comparar con un segundo método.)
 - Impurezas (muestras con impurezas conocidas)
 - Datos requeridos (Mínimo 9 determinaciones y por lo menos tres valores de concentración en el rango preestablecido.)

- **Precisión**
 - Repetibilidad (9 determinaciones en un rango de 3 concentraciones / 3 réplicas)
 - Precisión intermedia (días, analistas, equipo, columnas, reactivos)
 - Reproducibilidad (experimentos interlaboratorio)
 - Datos requeridos (desviación estándar, desviación estándar relativa, intervalo de confianza)
- Límite de detección (evaluación visual, desviación estándar de la respuesta y la pendiente)
- Límite de cuantificación (evaluación visual, señales, desviación estándar de la respuesta y la pendiente).
- Robustez (variaciones deliberadas en los parámetros del método ejemplo: pH, fase móvil, composición de la fase móvil, columnas diferentes, temperatura, velocidad de flujo etc.)

Comunidad Europea (Criterios para las Buenas Prácticas de Laboratorio)

Señala que se determine:

- especificidad, precisión (repetibilidad, reproducibilidad), exactitud, linealidad, rango, sensibilidad, LD y LQ

3. CONSIDERACIONES SOBRE MÉTODOS ANALÍTICOS

Por lo tanto:

- A. El laboratorio debe seleccionar métodos apropiados que hayan sido publicados ya sea en normas internacionales, regionales o nacionales, o por organizaciones técnicas reconocidas o en textos o publicaciones científicas importantes, o como sea especificado por el fabricante del equipo.
- B. También podrán usarse los métodos desarrollados o adaptados por el laboratorio, si son apropiados para el uso pretendido y si éstos son válidos.
- C. Algunas preguntas que nos podemos hacer para la selección de un método y que éste sea aplicable al proceso de validación son por ejemplo:
 - Definir el objetivo y alcance del método
Objetivo ¿Qué quiero conocer?
Alcance ¿Cuál es el propósito?
 - Definir el objetivo técnico (requerimientos de exactitud, precisión, límite de detección, límite de cuantificación, reproducibilidad, especificidad)
 - Seleccionar el método analítico ¿Qué método escoger?

- ¿Tiene el método la sensibilidad requerida?
- ¿Es suficientemente selecto para su uso directo o puede haber interferencia de otros componentes de la muestra?
- ¿Corresponden la exactitud y la precisión con los requerimientos analíticos del problema?
- ¿Esta disponible o son accesibles, a un costo razonable, los reactivos, material, instrumentos y equipo requerido?
- ¿Es aceptable el tiempo que se requiere para su realización?
- ¿Requiere de condiciones particulares de seguridad?
- ¿Cuál es el impacto ambiental de los residuos generados? (disposición de los residuos).
- Son más apropiados los métodos sencillos, rápidos y de bajo costo.
- Se elegirán métodos recomendados o aceptados por organizaciones internacionales relevantes
 - Se prefieren métodos que han demostrado su validez mediante estudios colaborativos por diversos laboratorios.
- Planear el desarrollo del método analítico
- Documentar el Método (debe contener toda la información necesaria para asegurar que cualquier Químico Analista debidamente capacitado, sea capaz de reproducirlo.)
 - D. Debemos conocer los tipos de método analíticos y los requerimientos mínimos para validarlo ya que ésta es una de las consideraciones primordiales que tenemos que considerar para ser usado.

Clasificación de los métodos Analíticos⁷

En función de su estado Regulatorio

- Métodos farmacopéicos: Todos aquellos métodos que aparecen en cualquier farmacopea (FEUM, USP, BP, EP)
- Métodos no farmacopéicos: Aquellos métodos no compendiados en una farmacopea.

En función de su aplicación (NOM 059 SSA1 y NOM-073-SSA1)

- Método para producto a granel
- Método para producto terminado
- Método para materia prima
- Métodos indicadores de estabilidad

⁷ USP XXVI NF/21 2003; Guía de Validación de Métodos Analíticos, Ed. 2002; Guidance for Industry, Analytical Procedures and Methods Validation Chemistry, Manufacturing and Controls Documentation, August 2000

En función de su propósito analítico

- Método para cuantificar el analito (contenido o potencia).
- Método para establecer la presencia del analito a un límite
- Método para identificar el analito

En función de la naturaleza de la respuesta analítica

- Método físico-químico, cuando la respuesta es de carácter físico (absorción de luz, emisión de luz, voltaje) o químico (consumo de iones, consumo de un acomplexante).
- Métodos biológicos cuando la respuesta es de carácter biológico (crecimiento microbiano, inhibición.)

Para hacer una validación acertada sobre el Método Analítico adecuado para los fines perseguidos en la USP XX26/NF 21 como "Validación de Métodos Compendiales" se ha determinado una clasificación en categorías para los ensayos en los cuales se describen los parámetros de desempeño a evaluar durante la validación de un método analítico:

Categoría I

Métodos analíticos para la cuantificación de los componentes principales de los activos en granel o ingredientes activos (que comprenden también a los conservadores) en productos farmacéuticos terminados.

Categoría II

Métodos analíticos para la determinación de impurezas y compuestos degradados en los activos en granel o compuestos de degradación en productos farmacéuticos terminados (lo cual comprende análisis cuantitativos y pruebas límite).

Categoría III

Métodos analíticos para la determinación de características de funcionamiento (por ejemplo, disolución, liberación de fármaco).

Categoría IV

Pruebas de identificación o pruebas de propiedades físicas.

NOTA: No todos los métodos analíticos se ajustan fácilmente a una de las cuatro categorías arriba citadas. Para estos métodos, cada elemento de dato debe ser considerado según un criterio de caso por caso de aplicación a la medición que pretende hacerse del método.

CATEGORÍA DE ENSAYOS

Parámetro de desempeño	Clasificación				
	I Identificación	II Cuantitativo, % área, % en peso	Limite	III Contenido/ potencia/ valoración	IV Pruebas específicas
Exactitud	-	+	-	+	+ ρ
Precisión- Repetibilidad	-	+	-	+	+ ρ
Precisión-Precisión Intermedia	-	+ ¹	-	+ ¹	+ ρ
Especificidad	+ ²	+	+	+ \otimes	+ ρ
Límite de Detección	-	- ³	+	-	-
Límite de Cuantificación	-	+	-	-	-
Intervalo	-	+	-	+	-
Linealidad	-	+	-	+	-
Rango	-	+	-	+	-
Robustez	-	+	- ³	+	+ ρ

Notas: éstos parámetros de desempeño también se pueden encontrar en CNQFB 2000, ICH Marzo 1995, USP 26 y FDA 2000.

- Significa que éstas características normalmente no son evaluadas
- + Significa que éstas características normalmente son evaluadas
- 1 La reproducibilidad en este caso es una buena característica, no se requiere la precisión intermedia.
- 2 La especificidad puede ser compensada por adición de un segundo método analítico.
- 3 Puede ser necesario en algunos casos
- ρ Puede no ser necesario en algunos casos
- \otimes La especificidad en pruebas de liberación puede ser compensada por la prueba de impurezas.

El laboratorio debe validar métodos no-normalizados, métodos diseñados/ desarrollados por el laboratorio, métodos normalizados usados fuera de su alcance propuesto, y ampliaciones y modificaciones de métodos normalizados para confirmar que los métodos se ajustan al uso propuesto. La validación debe ser tan extensiva como sea necesario para satisfacer las necesidades de la aplicación o del campo de aplicación dado. El laboratorio debe registrar los resultados obtenidos, el procedimiento usado para la validación, y una declaración acerca de que el método se ajusta para el uso propuesto.

Parámetro de desempeño	Definición
Especificidad	La selectividad (especificidad) de un método analítico es su capacidad para detectar inequívocamente el analito en la presencia de otros componentes, los cuales pueden estar presentes en la matriz de la muestra. (Los estudios de selectividad son efectuados antes de cualquier otro elemento de validación.)
Linealidad del sistema	Es la capacidad del instrumento de medición de obtener resultados analíticos directamente proporcionales a la concentración del analito.
Linealidad del método	Es la habilidad para obtener resultados analíticos reproducibles.
Precisión del sistema	Expresa la concordancia de las respuestas obtenidas de dos o más muestras que contienen solamente el analito de interés obtenidas bajo condiciones idénticas usando un mismo método analítico.
Precisión intermedia	Expresa la precisión con diferentes analistas y en días diferentes.
Precisión del método	Expresa la concordancia de las respuestas obtenidas de dos o más muestras obtenidas
Exactitud	Expresa la concordancia entre el valor obtenido y valor conocido del analito en la muestra. Generalmente se expresa como porcentaje de recobro.
Límite de detección (LD)	Es la mínima concentración de una sustancia en una muestra que puede ser detectada, pero no necesariamente cuantificada, bajo las condiciones de operación establecida, este puede ser determinado por la señal/ruido o basado en la curva de calibración y desviación estándar.
Límite de cuantificación (LQ)	Es la mínima concentración de una sustancia que es cuantificada bajo las condiciones establecidas de operación.
Límite de reporte	Es un valor que especifica el nivel en el cual los picos deben ser reportados en un método. Por lo común, es aplicado a impurezas en ingredientes activos farmacéuticos o compuestos de degradación en medicamentos, y es consistente con las guías Q3A y Q3B del ICH.
Robustez	Es la capacidad del método para proporcionar resultados confiables al realizar cambios internos en los parámetros del método (pH y polaridad de la fase móvil, flujo, presión etc.)
Rango	El intervalo entre los niveles de concentración alta y baja del analito, estudiadas en la linealidad.
Tolerancia	Grado de reproducibilidad de los resultados analíticos obtenidos por el análisis de la muestra bajo modificaciones externas al método como diferentes proveedores de reactivos, diferentes tipos de columna, equipos, condiciones ambientales, diferentes analistas
Estabilidad Analítica de la muestra	Propiedad de una muestra preparada para su cuantificación, de conservar su integridad fisicoquímica y la concentración del analito, después de almacenarse durante un tiempo determinado bajo condiciones específicas.
Adecuabilidad del sistema	Propiedad de reproducibilidad y resolución que permiten verificar si un sistema de análisis es adecuado para la ejecución del método analítico.

En la actualidad existe bibliografía en la cual nos indica como evaluar cada uno de los parámetros de desempeño mencionados anteriormente por lo que en el presente trabajo no serán mencionados.⁸

⁸ USP XXXVI Capítulo "Validación de Métodos Compéndiales"
⁹ Guía de Validación de Métodos Analíticos Edición 2002 CNQFB

CATEGORÍA QUE NO REQUIEREN VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS:

- Métodos compendiados:

Los métodos analíticos descritos en publicaciones oficiales y reconocidos (tal como farmacopeas) de un ingrediente o formulación particular, no requiere revalidación; sin embargo, el usuario debe verificar y documentar sus adecuabilidades bajo las condiciones reales de uso.

- REVALIDACIÓN:

Cuando ya se encuentran establecidos, los ensayos generales son usados en un producto nuevo, ensayo nuevo durante el proceso, producto intermedio nuevo, o una materia prima nueva, el ensayo requiere validación.

La revalidación puede ser requerida cuando un método es transferido de investigación a un Laboratorio Químico, a menos que Métodos Analíticos y Soporte hayan participado en la transferencia de los métodos y determinación de la resistencia o tolerancia del ensayo.

Un método analítico debe ser revalidado cuando la formulación del producto terminado es cambiada de manera importante. La revalidación puede ser requerida también cuando un proceso de manufactura de un principio activo en granel es cambiado de forma importante, o cuando hay cambios en el método analítico, o cuando se cambia el proceso de síntesis el activo y el perfil de impurezas pudo haber cambiado.

El intervalo y exactitud de los valores que se pueden obtener de los métodos validados (por ejemplo: la incertidumbre de los resultados, el límite de detección, la selectividad del método, la linealidad, el límite de repetibilidad y/o reproducibilidad, la consistencia contra influencias externas y/o sensibilidad cruzada contra interferencias de la matriz del elemento de ensayo/ muestra), deben ser relevantes con las necesidades de los clientes, como se evaluaron para el uso propuesto.

E. Para la presentación de un método analítico validado para su revisión y aprobación podemos utilizar la guía emitida por la FDA " PRINCIPIOS PARA PRESENTAR MUESTRAS Y DATOS ANALÍTICOS DE VALIDACIÓN DE MÉTODOS" Febrero de 1987 FDA⁹ éstas consideraciones se hacen extensivas a un método analítico que no necesariamente requiere ser aprobado por la FDA, pero si localmente. Por lo que podemos hacer las exclusiones y

⁹ Principios para presentar muestras y datos analíticos de validación de métodos. Febrero 1987
<http://www.fda.gov/cder/guidance/ameth.htm>

consideraciones según aplique. Por lo pronto se hace mención sobre algunos aspectos:

- Todos lo métodos empleados en el laboratorio deben estar claramente escritos, recopilados incluso en un manual de métodos a disposición de todo el personal en un momento dado.
- Debe estar autorizado por la Dirección del laboratorio (supervisor, coordinador, superintendente, gerente o casa matriz), que es la responsable de su elección y redacción.
- Debe informarse a todo el personal del laboratorio que no pueden usar métodos no autorizados, ni modificar los redactados por la Dirección.

F. El Jefe o coordinador del laboratorio seleccionará los métodos analíticos que han de aplicarse. Estos deben ser consistentes con la concentración de los analitos que se pretenden determinar y con el tipo de matriz en que se encuentran los analitos. Otros factores que deben tenerse en cuenta son:

- Disponibilidad de Instrumentos y equipos
- Rapidez con que se precisan los resultados
- Costo
- Conveniencia
- Factores de seguridad
- Exactitud y precisión

G. Otra consideración importante dentro de un método analítico automatizado es la validación del hardware, el software.

H. Los métodos analíticos empleados en un laboratorio deben estar escritos. Es ideal disponer de un manual de métodos con fotocopias accesibles a los analistas que utilizan cada uno de estos métodos. En la actualidad, la información y el desarrollo de los sistemas LIMS (Laboratory Information Management System) ha cambiado en muchos casos la fisonomía de estos manuales.

I. Tenemos que establecer normas generales para la redacción correcta de los métodos de análisis, como por ejemplo:

1. Hay que seguir una secuencia estricta, para que el analista no tenga que volver atrás en el proceso analítico.
2. Hay que evitar las abreviaturas, los nombres y expresiones vulgares o comunes que se presupone que todo el mundo conoce. En caso de ser necesario, las abreviaturas se definen al principio.
3. Debe ser específico y sin ambigüedades.
4. Se indicarán las etapas críticas en el análisis y las consecuencias si no se adopta el cuidado necesario.

5. Es conveniente emplear frases cortas y redactadas claramente.

- J. Los métodos analíticos deben estar redactados correctamente y siguiendo una lógica para un mejor entendimiento por parte del usuario, así como, para facilitar su revisión y aprobación. Existen diferentes formas para la redacción de los métodos lo ideal es que el proceso esté homogeneizado¹⁰.
- K. Por último se tienen que mantener una vigencia de los métodos analíticos de acuerdo a los cambios que vayan surgiendo no importando el origen del método analítico:

- Método de Compendio
- Método generado localmente
- Método por Transferencia de Métodos Analíticos
- Método enviado por Casa Matriz

4. CONSIDERACIONES GENERALES Y TEÓRICAS SOBRE EL MUESTREO¹¹

Definición:

Muestreo

El muestreo es un procedimiento definido por medio del cual se toma una parte de una sustancia, material o producto para proporcionar al ensayo una muestra representativa del total. El muestreo también puede ser requerido por la especificación apropiada por el cual la sustancia, material o producto tienen que ser ensayados. Los procedimientos de muestreo deben describir la selección, el plan de muestreo, el retiro y la preparación de una muestra o muestras de una sustancia, material o producto para producir la información requerida.

Procedimiento de muestreo

Es la sucesión de pasos propuestos en una especificación, que aseguran que la muestra eventualmente tomada para el análisis tendrá las características esenciales de la población. Por lo tanto, el plan de muestreo debe reconocer la necesidad de investigar el grado de homogeneidad del material a granel.

Cuando el cliente requiere desviaciones, adiciones o exclusiones del procedimiento de muestreo documentado, éstas deben ser registradas en detalle con los datos adecuados del muestreo, deben estar incluidas en todos los documentos que contengan resultados de ensayo y deben ser comunicadas al personal apropiado.

¹⁰ Handbook of Quality Assurance for the Analytical Chemistry Laboratory

¹¹ La Calidad en los Laboratorios Analíticos; Editorial Reverté, M. Valcarcel, 1995

- A. Aún cuando al laboratorio analítico no le haya sido asignado la obtención de la muestra, el personal debe conocer el método utilizado de muestreo y puede hacer indicaciones de la toma de muestra.
- B. Se debe realizar un plan de muestreo ya que todo proceso de toma de muestra debe estar bien planificado, detallado y escrito. El plan de muestreo debe incluir dónde y quién ha de realizar la toma de muestra, así como el procedimiento que ha de seguirse para su obtención. Debe tenerse en cuenta que por lo general este proceso tiene lugar fuera del laboratorio y que en ocasiones hay que resolver problemas prácticos con los que el Químico Analista no está familiarizado. Las principales razones que justifican la necesidad de disponer del procedimiento de muestreo por escrito son las siguientes:
- El escribir un plan de muestreo obliga a pensar más detalladamente sobre todos los pasos a seguir en el proceso.
 - Si el plan es claro se evitan errores de interpretación. No olvidemos que en las transmisiones orales se pueden producir errores de entendimiento e interpretación. Por otra parte, evita el problema que se origina cuando cambia el personal que interviene en la etapa de muestreo.
 - El personal muestreador debe seguir un plan de muestreo por escrito lo que proporciona una garantía de que el proceso se ha realizado siguiendo del procedimiento deseado.
 - El plan escrito de muestreo ayuda a asegurar que la muestra es representativa del lote (por ejemplo: tamaño, locación.)
- C. En un plan escrito de muestreo es aconsejable visualizar claramente los requisitos que deben cumplirse y constatar claramente, qué el muestreo constituye la etapa más básica de los análisis. Los requerimientos básicos a considerar son:
- Información sobre la muestra a analizar incluyendo su naturaleza, composición química probable de la matriz, distribución topográfica (equipo o recipiente), etc.
 - Tipo de instrumentación a utilizar en el muestreo
 - Grado de homogeneidad probable y si es necesario realizar ensayos de homogeneidad.
 - Número de submuestras tomadas al azar y que se necesitan para obtener una exactitud determinada en el resultado analítico.
 - Esquema de precauciones a seguir en la preparación de la muestra.
 - Cantidad de muestra ha ser tomada: El tamaño de la muestra influencia los resultados, por ejemplo: el tamaño de la muestra de un granulado podría

parecerse al tamaño de la dosificación. Se ha establecido que el tamaño apropiado de la muestra de un granulado es aproximadamente 3 veces el tamaño de una dosis sencilla y en el caso de producto terminado el tamaño de la muestra de validación debe ser tan grande como se requiera para una prueba completa según la USP.

por ejemplo: -Uniformidad de dosis: 30 tabletas

-Disolución: 24 tabletas

- Muestra de Retención: Es una cantidad o porción de materia prima, granel o producto terminado (importado o nacional) que ha sido acondicionado como producto terminado, el cual debe guardarse en las mismas condiciones de almacenamiento que se recomienda durante su tiempo de vida útil; y deben tener un tiempo de retención que según la legislación sanitaria es el tiempo autorizado de caducidad de un producto, más un año. Estas muestras son utilizadas para:
 - Observar su comportamiento (Revisión anual).
 - Testigo de cualquier producto que ha salido a la venta (en caso de una posible queja o sospecha de problemas de calidad).
 - En caso de una investigación se cuenta con muestra para reanálisis si esto es requerido.
- D. Debemos tomar en cuenta la matriz de la muestra, la complejidad del muestreo no sólo es función de los estados de agregación en que se puede presentar (sólido, líquido o gas) sino también de que su composición y volumen permanezcan o no constantes con el tiempo y lugar y que la muestra posea, o no, unos límites claramente definidos.
- E. Por otra parte, hay que considerar que la matriz puede estar constituida por dos ó más fases en cuyo caso es necesario definir si el analito debe determinarse en una de ellas o en la muestra total.
- F. El plan de muestreo debe incluir todos los pasos a seguir bien sea para eliminar la falta de homogeneidad o para evaluar su grado de incidencia (análisis independiente de distintos puntos en el muestreo).
- G. El plan de muestreo debe tomar en cuenta los tipos de muestras para saber que análisis podemos realizar y el mejor modo de obtener la muestra:
 - Muestra representativa de composición y propiedades similares al conjunto de la muestra. Suele estar constituida por incrementos o submuestras íntimamente mezclados para su homogeneización antes del análisis.

- Muestra selectiva, obtenida en el muestreo de zonas determinadas.
- Muestra protocolo o sistemática, obtenida según un procedimiento sistemático establecido.
- Muestra aleatoria, obtenida al azar de un conjunto de muestras.
- Muestra composita, formada por dos o más incrementos. Su composición es considerada como promedio y elimina la necesidad de analizar un elevado número de muestras o de incrementos.

Básicamente se utilizan tres tipos de muestreo:

1. Muestreo intuitivo. Basado en la experiencia del muestreador en la toma de un determinado tipo de muestra.
2. Muestreo Estadístico. Generalmente implica el análisis de un gran número de muestras obtenidas siguiendo un determinado modelo. Las conclusiones que se deriven de este tipo de muestreo no plantean controversia pero sí lo puede plantear la validez del modelo estadístico utilizado (Muestreo Aleatorio Simple, Muestreo Estratificado, Muestreo agrupado o por conglomerados, Muestreo sistemático y Muestreo doble y múltiple).
3. Muestreo de Protocolo. Definido como el plan especificado para poder tomar decisiones en una situación dada. En el protocolo se suele especificar el tipo, tamaño, frecuencia, período de muestreo e incluso el lugar y tiempo del mismo. El no seguir alguno de los puntos del protocolo constituye motivo de desacreditación de una muestra o de un resultado.

H. Para hacer la toma de muestra se debe considerar como mínimo los siguientes puntos:

- Cuándo, dónde y cómo recoger la muestra.
- Los puntos de muestreo deben ser convenientes y de fácil acceso.
- Equipos de muestreo incluyendo su mantenimiento y calibración.
- Contenedores de las muestras incluyendo: limpieza, adición de estabilizadores y conservadores.
- Transporte de la muestra.
- Pretratamiento de la muestra: secado, homogeneización y manejo de la muestra antes de la medida analítica si aplica.
- Submuestreo.
- Sistema informativo en el laboratorio: etiquetado, recolección de datos y de otro tipo de información adicional.
- Requisitos de custodia de la muestra.
- Las muestras deben ser etiquetadas adecuadamente y la etiqueta debe tener la información necesaria como:

- Persona encargada de realizar el muestreo.
- Día, Hora y lugar de la toma de muestra.
- Información sobre la metodología seguida.
- Posibles incidencias que hayan tenido lugar durante el muestreo.

Toda esta información será de sumo valor a la hora de interpretar los resultados obtenidos y puede justificar en algunos casos, la obtención de resultados atípicos.

I. Si aplicamos un plan estadístico de muestreo debemos considerar lo siguiente:

- Los límites de confianza de la propiedad determinada de la medida de la población
- El intervalo de tolerancia para un porcentaje dado.
- Mínimo número de muestras requeridas para establecer los intervalos anteriores con un nivel de confianza dado.

Existe una serie de criterios básicos a considerar al realizar un estimación estadística: En primer lugar, las muestras deben tomarse aleatoriamente y cada muestra, o incremento tomado, deben ser independientes entre sí. Para poder aplicar un modelo estadístico correcto debe conocerse el tipo de distribución de los determinados en las muestras (generalmente se aplica una distribución Gaussiana).

J. Durante un muestreo no se debe descartar la conservación y transporte de las muestras ya que de ello depende la integridad del analito y por ende los resultados obtenidos.

- El material de los contenedores debe ser cuidadosamente seleccionado para evitar posible contaminación o pérdida de analito.
- Se deben tomar precauciones para evitar la exposición de la muestra a humedades extremas.
- En el transporte de sólidos se deben evitar problemas de segregación.
- La muestra debe conservarse de forma que se reduzca al mínimo los riesgos de alteraciones que ésta pueda experimentar antes del análisis, bien sea por adsorción de agua o de CO₂, o por oxidaciones por contacto con la atmósfera.
- Como norma general se recomienda evitar al máximo su exposición al aire y a la luz.

K. Las personas que realizan el muestreo deben vestir siempre ropa de protección adecuada para evitar contaminación por manipulación de la muestra.

L. El almacenaje de las muestras es en numerosas ocasiones inevitable, especialmente cuando éstas no se pueden analizar inmediatamente después de llegar al laboratorio. En numerosas ocasiones es de sumo interés preparar un duplicado de la muestra, el cual se guarda y puede utilizarse con el tiempo como muestra de chequeo de los resultados obtenidos en los análisis.

Una vez descritas las consideraciones de los Métodos Analíticos y de Muestreo en el presente trabajo se muestra un ejemplo sobre un proceso de Validación Farmacéutico aplicado a una granulación húmeda.

Muestreo Durante la validación de un Proceso Farmacéutico

Durante una validación de procesos todas las pruebas deben tener un objetivo y especificaciones que se encontrarán descritas en el protocolo de validación. Las especificaciones e intervalos pueden ser obtenidas de datos históricos, los datos no pueden tener un carácter informativo, sin embargo, si pueden ser usados para establecer intervalos en validaciones futuras tratándose del mismo producto o de principios activos similares.

Es importante que en el protocolo de validación se indique:

- Las pruebas que tiene que ejecutar el laboratorio químico y/o microbiológico según corresponda.
- Tipo de muestras.
- Especificaciones recomendadas e intervalos.

Por lo tanto, la selección de las pruebas depende de la naturaleza del estudio; por ejemplo, si hablamos de un nuevo producto la validación es completa de principio a fin. Un cambio en el proceso que ya fue validado previamente solo se eligen la pruebas en las cuales se evalúa el cambio solicitado y también toda aquella fase del proceso de fabricación que se vea afectada.

La validación de un proceso está constituida por la validación de cada uno de los procesos unitarios que constituyen el tren de fabricación. Cada proceso unitario debe ser evaluado mediante la prueba correspondiente y deben alcanzar los atributos de calidad preestablecidos. Por ejemplo si pensamos en una granulación húmeda las operaciones unitarias que se evaluarían serían las siguientes:

- ❖ Aún cuando el monitoreo de los parámetros de trabajo no son una operación unitaria si se considera de vital importancia el hecho de vigilar que se encuentren dentro de especificaciones durante la ejecución. Por mencionar algunos éstos parámetros son:
Fuerza y velocidad de compresión, velocidad y tiempo de mezclado, velocidad y tiempo de secado.

Estos parámetros nos permiten la verificación del funcionamiento consistente del proceso entre lotes, y son una herramienta esencial para ser usada en las investigaciones de falla de las pruebas.

❖ Mezcla en seco (excipientes y activo)

En éste paso se evalúa la homogeneidad de los excipientes y activo por tal motivo podemos determinar la Uniformidad de mezclado siguiendo un método de Uniformidad de Dosis y de acuerdo a la experiencia de la validación de otros productos determinar la especificación a cumplir; sin que se vean afectados los atributos de calidad del producto.

Dado que es importante conocer la interacción de los excipientes con el activo en el proceso de mezclado se evalúa que no haya una segregación de polvos, por lo tanto, se puede solicitar el análisis de densidad de granel suelto y compactado, así como, tamaño de partícula y ensayo de fracciones siguiendo procedimientos internos de análisis o métodos Farmacopéicos.

❖ Granulación

En éste paso tenemos que evaluar las especificaciones de la solución granulante como por ejemplo pH, viscosidad, estabilidad de la solución (caducidad), posiblemente algún ingrediente como un antioxidante, ensayo del ingrediente activo ya que en ocasiones éste es adicionado en el paso de la adición de la solución granulante.

❖ Molienda y tamizado

Dado que en éste paso se reduce el tamaño de partícula por lo cual es posible la liberación de humedad para un mejor secado. Puede ocurrir segregación de polvo; para evaluar estos parámetros se sugiere la realización de los siguientes análisis.

- Evaluación del tamaño de partícula (mallas)
- Ensayo de fracciones (mallas)
- Humedad por LOD (Loss of Dried) o KF (Karl Fisher) según aplique
- Densidades aparente y compactada

❖ Lubricación y mezclado final

En ésta operación unitaria evaluamos que:

- El activo haya sido distribuido en todo el granel mezclado

- La mezcla lubricada debe permanecer física y químicamente dentro de los límites necesarios para concluir con el paso de tableado.

Para evaluar éstos puntos se recomienda realizar las siguientes pruebas:

- Uniformidad del mezclado
- Tamaño de partícula
- Humedad (LOD o KF)
- Densidades aparente y compactada

❖ **Compresión**

En esta etapa se evalúa la funcionalidad del proceso y la producción a través del tiempo de todo el lote (parámetros de desempeño). Estas pruebas evalúan las propiedades físicas, químicas y de elegancia de la unidad de dosificación, es decir, definen los atributos de calidad del producto final:

- Uniformidad de dosis
- Disolución
- Perfil de disolución
- Ensayo
- Ensayo de Degradado o Conservadores
- Desintegración
- Variación de peso
- Dureza y espesor
- Humedad
- Elegancia
- Prueba de límites microbianos

Si en un momento determinado se requieren adicionar alguna otra operación unitaria ésta tendría que ser evaluada bajo los mismos lineamientos del protocolo de validación.

PLANES DE MUESTREO SUGERIDOS Y TIPO DE ENSAYO APLICADO A CADA MUESTRA

Muestra	Pruebas	Comentarios
<i>Polvo de mezcla seca sin lubricar</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Ensayo del activo - Densidad aparente - Densidad compactada - Uniformidad de Mezclado 	<p>El muestreo se debe realizar en los puntos en donde el producto está en contacto con el equipo y se consideran críticos; el número de puntos a muestrear varía según del tipo de equipo usado. A diferentes tiempos de mezclado. A diferentes velocidades de mezclado.</p>
<i>Solución granulante</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Ensayo del activo - pH - Viscosidad - Biocarga 	<p>Las muestra deben ser tomadas durante la elaboración, se debe determinar una periodo de caducidad de la solución y se sugiere se haga la prueba de límites microbianos</p>
<i>Granulación molida y Lubricada</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Tamaño de partícula - Ensayo de la fracción de las mallas - Uniformidad de mezclado - Humedad - Densidad aparente - Densidad compactada 	<p>Se sugiere que las muestras se tomen de los puntos críticos del equipo usado de acuerdo al diseño del mismo, las muestras para la prueba de uniformidad de mezclado pueden ser comprimidas o polvo suelto. A diferentes tiempos de mezclado A diferentes velocidades de mezclado Se debe especificar el método de humedad (KF o LOD)</p>
<i>Tabletas y polvos que fueron divididos</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Uniformidad de Dosis - Disolución - Perfil de Disolución - Ensayo del activo y degradados - Humedad - Límites microbianos 	<p>El muestreo se puede realizar considerando por ejemplo: Diferentes velocidades de tableteo Diferentes tiempos de tableteo Diferentes fuerzas de compresión Cantidades de carga en la columna de volteo (1 kg, 3 kg etc) dependiendo de la cantidad de granulado</p>

Notas:

- CFR 211.110 establece que el desarrollo de los procesos de manufactura podrían causar una variabilidad en el producto farmacéutico a validar incluyendo: Mezclado adecuado para asegurar uniformidad y homogeneidad.
- Guía de la FDA para inspección de formas de dosificación oral sólida para la pre/post aprobación de aspectos para desarrollo y validación.—Ene 1994 indica que: La uniformidad después de la lubricación es requerida para asegurar el desarrollo de los productos finales.
- Errores de evaluación en algunas zonas de mezclado.

- Tamaño de la muestra- aproximadamente una unidad de dosificación.
- Las muestras representativas son tomadas de acuerdo a muestreo estadísticos, o usando ANSI/ASQC estándar Z1.4-1993, o bien por muestreo intuitivo siempre y cuando quede bien definido el plan de muestreo.
- Las especificaciones establecidas deben ser para valores individuales es decir para cada sitio de muestreo (Locaciones).
- Las especificaciones pueden ser tomadas a partir de datos históricos previamente obtenidos de lotes de Demostración o Ingeniería en los cuales se establecieron los parámetros de fabricación.

MUESTREO DE VALIDACIÓN DE LIMPIEZA

La FDA y en general las regulaciones sanitarias, requieren que se demuestre y garantice la identidad, pureza, potencia y seguridad de los productos fabricados en la industria farmacéutica; una de las etapas críticas a evaluar es la validación de limpieza, con ello se demuestra que tanto los principios activos como agentes de limpieza hayan sido removidos hasta niveles de aceptación predeterminados cuando se fabrican más de un producto que contiene el mismo activo.

La validación de limpieza de un equipo es el proceso de establecer evidencia de que un proceso en particular de limpieza va a reducir los residuos (puede ser producto, intermediario, excipiente o agente de limpieza) de la superficie del equipo a un nivel predeterminado aceptable.¹²

Dentro de la validación de limpieza de un equipo, se debe comenzar con la evaluación de los productos fabricados. Cuando en un equipo se fabrican diferentes productos, resulta más práctico limitar la cantidad de análisis a realizar ya que el evaluar cada uno de los productos fabricados en cada equipo resultaría costoso. Es por eso que se emplea la situación de el " peor escenario" (worst case), éste se va a basar en la toxicidad del principio activo, ciclo de limpieza, los productos fabricados en el equipo, la solubilidad del principio activo, dificultad de limpieza.¹³

Por medio del método analítico validado y el desarrollo exitoso de los protocolos de validación se comprueba que el sistema de limpieza aplicado a los equipos es adecuado. Una parte importante dentro de los protocolos, es seleccionar los sitios de muestreo, es decir, elaborar un plan de muestreo.

¹² Rucy-Ching Hwang "Process design and data analysis for cleaning validation", Pharm. Techn, 21 (1) 1997

¹³ Jenkins "cleaning validation: An overall Perspective" Pharm. Techn, 18 (4) 1994

Selección de sitios de Muestreo^{12 14}

Siguiendo la evaluación del producto, el equipo que tiene contacto directo con el producto debe ser examinado. La evaluación comienza con la identificación de las superficies de contacto del producto con cada pieza del equipo.

El siguiente paso, es determinar las locaciones más difíciles de limpiar e identificar aquellas áreas donde se pueda acumular o retener producto. Los empaques y hendiduras son algunos ejemplos de éstas áreas. Donde sea factible, estas áreas deben ser modificadas apropiadamente para facilitar el proceso de limpieza.

La elección de un método en particular de muestreo depende del límite de residuo aceptado, sitio de muestreo, tipo de residuo y configuración del equipo. Existen 4 métodos para determinar el nivel de concentración de contaminación de un equipo de manufactura.

- Muestreo con hisopos.
- Muestreo con enjuagues.
- Producto placebo.
- Analizando el lote siguiente para ver la presencia de contaminación.

El último método casi no es utilizado en la validación de limpieza ya que es costoso. Para el método de producto placebo, también existen argumentos por la FDA como son que el placebo tiende a diluir el contaminante hasta un punto en el que resultaría difícil detectarlo, además del costo del proceso, por lo tanto este método tampoco es muy utilizado en validación de limpieza.

En la mayoría de los equipos que se emplean para la fabricación de productos no estériles, sus superficies son accesibles por lo que el muestreo se hace con hisopos (método preferido por la FDA). El hisopo se impregna con un solvente, en el cual es soluble el residuo y se limpia un área determinada de la superficie del equipo. El solvente se analiza para determinar la cantidad de residuo que hay basado en el área de contacto conocida. Sin embargo cuando las superficies de muestreo sean limitadas o no sea fácil su acceso, entonces se emplearán aguas de enjuague final. El volumen de este enjuague final es determinado exactamente para que la cantidad total de residuo en la pieza del equipo se calcula de la cantidad encontrada en la alícuota de la muestra del enjuague. Sin embargo las muestras pueden dar resultados falsos, si es que el residuo es muy poco soluble o insoluble. Otra desventaja de este método de muestreo es que es probable que el agua de enjuague no haga buen contacto con todas las partes del equipo y no arrastre los residuos.

¹⁴ Andreas Sëller "Cleaning Validation and residual Limits" Pharm. Techn, 18 (4) 1994

Una vez que se realiza el muestreo como mínimo se debe contar con los siguientes datos: Tipo de muestreo, Solvente utilizado, Método de extracción, Ingrediente activo a determinar, Cantidad mínima detectable, Nombre del analista.

Métodos Analíticos

Un punto clave en la validación de limpieza son los métodos analíticos para detectar residuos. Existe una estrecha relación entre los límites de residuo aceptados y el método de ensayo empleado para verificar la limpieza de un equipo. Cualquiera que sea el método analítico seleccionado para análisis de residuos este se debe validar antes de proceder el análisis de las muestras.

Dentro de la validación de un proceso farmacéutico, así como, de limpieza se tienen que evaluar los resultados obtenidos una vez analizadas las muestras. Si los resultados de las muestras analizadas se encuentran fuera de los criterios de aceptación entonces se elabora un reporte de investigación para determinar las(s) causa(s) y establecer acción(es) correctiva(s). Una vez detectado el error, se procede a volver a tomar las muestras para el análisis. También se aplica un remuestreo cuando se ha derramado la muestra ó se ha roto el contenedor.

Remuestreo

Mientras que el reanálisis se refiere al análisis de la muestra original, el remuestreo involucra el análisis de una muestra obtenida de la colecta de una nueva muestra del lote.

El establecimiento de mecanismos de control para el examen de muestras adicionales para el análisis de cumplimiento comercial o regulatorio debe estar de acuerdo con procedimientos y estrategias de muestreo predeterminados.

En algunos casos, cuando se han examinado todos los datos, puede concluirse que la muestra original no se preparó adecuadamente y, por lo tanto, no fue representativa del lote.

Debe llevarse a cabo un remuestreo del lote si la investigación demuestra que la muestra original no era representativa del mismo. Esto estaría indicado, por ejemplo, por resultados muy variables obtenidos de diversas alícuotas de la mezcla original (después de determinar que no hubo error en el análisis). El remuestreo debe realizarse con los mismos métodos calificados y validados que se utilizaron para la muestra inicial, sin embargo, si la investigación determina que el método de muestreo inicial tiene un error, debe desarrollarse un nuevo método de muestreo exacto, calificado y documentado.

Capítulo III

Discusión

Durante la validación de un proceso farmacéutico se tiene que cumplir con una serie de prerequisites dentro de los cuales están considerados los métodos analíticos y el muestreo, puntos que nos ocupan en el presente trabajo; de tal manera que:

- El laboratorio debe usar métodos de ensayo, incluyendo métodos para muestreo, que satisfagan las necesidades del cliente y que sean apropiados para los ensayos. Deben usarse preferentemente los métodos publicados en normas internacionales, regionales o nacionales, pero también pueden ser usados métodos desarrollados o adaptados por el laboratorio, sin son apropiados para el uso pretendido y si éstos son validados.
- Se debe considerar responsabilidad del laboratorio informar al área de Ingeniería de procesos que el método propuesto por éste es considerado inapropiado u obsoleto cuando aplique.
- Un punto importante dentro del uso de los métodos analíticos es que estos deben estar claramente escritos, es decir, que no sean ambiguos del tal manera que el Químico Analista no juegue con la interpretación, deben estar a disposición del personal y sobre todo deben ser métodos aprobados.
- La literatura indica que el laboratorio debe tener un plan de muestreo y procedimiento para efectuarlo, cuando lleve a cabo muestreo de sustancias, materiales o productos para ensayo. Sin embargo, en la práctica ésta actividad es realizada por el área de ingeniería de procesos que normalmente excluye al laboratorio siendo que una de las consideraciones importantes es que el Laboratorio participe en la elaboración del plan de muestreo de tal manera que se interesen en la importancia del tamaño apropiado de la muestra y que ésta sea representativa, así como, verificar que durante el muestreo, transporte y conservación de la muestra no se vea afectada la integridad de la misma.
- Los documentos relacionados con las pruebas a las que son sometidas las muestras deben estar a disposición del solicitante del análisis de tal manera que verifique la vigencia de los Métodos Analíticos aplicados.
- El área de Ingeniería de procesos y el laboratorio deben trabajar en equipo y con una comunicación clara y precisa sobre los requerimientos solicitados, y sobre todo que quede bien establecido en el protocolo de validación del proceso farmacéutico el método analítico a usar, así como, el plan de muestreo. De tal manera que si se presenta un resultado atípico se

puede determinar claramente si es debido a un defecto de la muestra proporcionada o por haber realizado un tratamiento incorrecto de la misma.

Las consideraciones generales que se contemplan en los métodos analíticos y muestreo del presente trabajo no son limitativas puede ser que en la práctica diaria surjan nuevas consideraciones ya que la tecnología avanza cada día más aprisa, sin embargo, el fundamento teórico del método analítico y el significado de una muestra representativa no cambia.

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

Capítulo IV

1. Conclusión

La validación de un proceso no es solamente un proyecto o algo que se añade a las operaciones: Es un sistema de calidad inherente a cada operación. Así, validación es el establecimiento de la evidencia documentada que provee un alto grado de seguridad de que en un proceso específico, el producto se genera consistentemente con especificaciones y características de calidad predeterminada.

Por lo tanto, el laboratorio de Control Químico juega un papel muy importante en los procesos de Validación Farmacéuticos ya que debe contar con métodos analíticos validados de acuerdo a los requerimientos regulatorios; de tal manera que los datos reportados deben proveer la confianza de que fueron obtenidos usando los métodos adecuados.

Por otra parte, inherente al análisis existe el muestreo, que es una etapa importante durante la validación de un proceso, ya que conforme a esta se toma una decisión sobre la base de la verificación de sus atributos, especificaciones y características del lote de donde se tomó, puesto que si la muestra analizada no es representativa, el análisis, no sirve y genera resultados erróneos. Por lo tanto, en el protocolo se debe definir claramente el tipo, tamaño, frecuencia, locación y tiempo de muestreo.

La pretensión del presente trabajo es presentar de manera general los puntos más importantes que se tienen que considerar durante la aplicación de un método analítico y de muestreo desde la perspectiva de validación de un proceso farmacéutico. Por último, cabe mencionar que este trabajo es una compilación bibliográfica y de experiencias aprendidas en la industria farmacéutica.

2. Bibliografía

1. Andreas Sëller "Cleaning Validation and residual Limits" Pharm. Techn, 18 (4) 1994.
2. Code of Federal Regulations 21; parts 210 y 211, August 29 1996 <http://www.fda.gov/cder/dmpg/cgmpregs.htm>
3. Compendio Farmacéutico USP XXVI Validation of Compendial Methods.
4. Guía de Validación de Métodos Analíticos; Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos; edición 2002.
5. Guidance for Industry, Analytical Procedures and Methods Validation Chemistry, Manufacturing and Controls Documentation, August 2000 <http://www.fda.gov/guidance/2396dft.htm>
6. Guideline for submitting samples and analytical methods validation, February 1987, <http://www.fda.gov/cder/guidance/ameth.htm>
7. Guideline on General Principles of Process Validation, May 1987, <http://www.fda.gov/cder/guidance/pv.htm>
8. ICH Harmonised Tripartite Guideline, Text on Validation of Analytical Procedures, October 1994.
9. Informacéutico Volumen 9 No.5 Noviembre 2002 de AFM.
10. Jenkins "Cleaning Validation: An overall Perspective" Pharm. Techn, 18 (4) 1994.
11. La Calidad en los Laboratorios Analíticos, Editorial Reverté, M. Valcarcel, 1995.
12. Manual de Buenas Prácticas de Laboratorio Septiembre 2002 de CENAM.
13. Norma Oficial Mexicana NOM-059-1993 "Buenas prácticas de fabricación para establecimientos de la industria químico farmacéutica dedicados a la fabricación de medicamentos".
14. Principios para presentar muestra y datos analíticos de validación de métodos, Febrero 1987, <http://www.fda.gov/cder/guidance/ameth.htm>
15. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración. Norma Mexicana IMNC; NMX-EC-IMNC-2000; ISO/IEC 17025:1999.
16. Revista mexicana de ciencias Farmacéuticas "Validación de Procesos en la Industria Farmacéutica" Catala Ylla Miguel, 21 (1) Abr-May 1990.
17. Ruey-Ching Hwang "Process design and data analysis for cleaning validation", Pharm. Techn, 21 (1) 1997.