



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**TRANSFERENCIA DE MÉTODOS ANALÍTICOS DE CONTROL DE CALIDAD EN LA
INDUSTRIA FARMACÉUTICA**

TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA

Gabriel Alejandro Martínez Lorenzo



CDMX

AÑO 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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: **Profesor: Georgina Margarita Maya Ruiz**

VOCAL: **Profesor: Juan Manuel Rodríguez**

SECRETARIO: **Profesor: Natividad García Escamilla**

1er. SUPLENTE: **Profesor: Andrea Saori Majluf Trejo**

2° SUPLENTE: **Profesor: Norma Angélica Villanueva Martínez**

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO, FACULTAD DE QUÍMICA

ASESOR DEL TEMA:

Georgina Margarita Maya Ruiz

SUSTENTANTE:

Gabriel Alejandro Martínez Lorenzo

Índice General

Página

ACRÓNIMOS Y DEFINICIONES	6
INTRODUCCIÓN	10
OBJETIVOS	12
GENERALIDADES	13
PROCESO DE TRANSFERENCIA ANALÍTICA	42
DISCUSIÓN	73
CONCLUSIONES	108
ANEXO 1. PRUEBAS ESTADÍSTICAS DISPONIBLES.....	109
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	126

Índice de tablas:

Tabla 1. Tipos de error.....	15
Tabla 2: Estándares de Buenas Prácticas de Fabricación.....	22
Tabla 3: Compendios utilizados como referencia.....	24
Tabla 4. Precisión, especificidad y linealidad	30
Tabla 5: Panorama de la industria farmacéutica en México	33
Tabla 6. Texto de la normatividad internacional	35
Tabla 7. Texto de la FEUM y la USP	37
Tabla 8. Diseños experimentales y criterios de aceptación para análisis de productos terminados y a granel (World Health Organization, 2011).....	39
Tabla 9. Tipos de pruebas de control de calidad de medicamentos	43
Tabla 10. Objetivo de las pruebas cuantitativas de control de calidad	46
Tabla 11. Condiciones generalmente empleadas para degradación forzada.	50
Tabla 12. Diseño multifactorial completo	52
Tabla 13. Diseño experimental de Plackett Burman.....	53
Tabla 14. Posibles pruebas estadísticas para estudio de transferencia analítica	62
Tabla 15. Ejemplo de comparaciones con la prueba t para dos muestras (Chambers, y otros, Septiembre 2005).....	66
Tabla 16. Cálculo del valor de aceptación de acuerdo al Capítulo General <905>	67
Tabla 17. Cálculo de la máxima diferencia aceptable de acuerdo a USP <1010>	69
Tabla 18. Resultados del laboratorio A.....	74
Tabla 19. Resultados de los laboratorios M, N, O y P.....	74
Tabla 20. Resultados del laboratorio B.....	75
Tabla 21. Resultados de los laboratorios W, X, Y y Z	75
Tabla 22. Prueba de Tukey, comparaciones contra el Laboratorio A	78
Tabla 23. Prueba de Tukey, comparaciones contra el Laboratorio B	79
Tabla 24. Límites de los intervalos de confianza en las comparaciones contra el Laboratorio A....	80
Tabla 25. Límites de los intervalos de confianza en las comparaciones contra el Laboratorio B....	80
Tabla 26. Cálculo de la diferencia máxima aceptable	82
Tabla 27. Datos para cálculo de intervalo de tolerancia de expectativa beta. Comparaciones contra el Laboratorio A.	88
Tabla 28. Datos para cálculo de intervalo de tolerancia de expectativa beta. Comparaciones contra el Laboratorio B.	89

Tabla 29. Resultados del cálculo del intervalo de tolerancia de expectativa beta para las comparaciones contra el Laboratorio A	90
Tabla 30. Resultados del cálculo del intervalo de tolerancia de expectativa beta para las comparaciones contra el Laboratorio B	91
Tabla 31. Conclusiones de la aplicación de los modelos estadísticos a los datos simulados	94
Tabla 32. Valores M para cálculo de uniformidad de dosis por uniformidad de contenido (Presentados como porcentaje)	98
Tabla 33. Valores AV calculados	99
Tabla 34. Resultados de la prueba de Levene usando el promedio y la mediana.....	100
Tabla 35. Resultados de la prueba F para comparación de varianzas	101
Tabla 36. Criterios de la prueba de disolución con el criterio Q para formas farmacéuticas de liberación inmediata	103
Tabla 37. Criterios de la prueba de disolución con el criterio Q para formas farmacéuticas de liberación retardada.....	103
Tabla 38. Valor mínimo del factor de similitud f2 para diferentes diferencias máximas deseadas en cada punto de muestreo.....	104
Tabla 39. Comparación de perfiles de disolución Laboratorios T, R y S.....	105
Tabla 40. Prueba t para dos muestras	109
Tabla 41. ANOVA o ANADEVa de una vía	111
Tabla 42. Prueba de Tukey.....	112
Tabla 43. Prueba Two-One Sided test de Schuirmann	114
Tabla 44. Prueba TOST por pares.....	115
Tabla 45. Prueba de Levene.....	116
Tabla 46. Prueba de Bartlett	117
Tabla 47. Prueba F de igualdad de varianzas	118
Tabla 48. Factores f1 y f2 de similitud de perfiles de disolución	118
Tabla 49. Intervalo de tolerancia de expectativa beta	119
Tabla 50. Resultados de concentración de quinina en agua tónica (ejemplo de β -ETI)	120
Tabla 51. Resultados del ejemplo de cálculo de β -ETI	121
Tabla 52. Análisis de regresión lineal	123

Índice de gráficas:

Gráfica 1: Principales destinos de las exportaciones de la industria farmacéutica mexicana durante 2012.....	34
Gráfica 2: Principales proveedores de importaciones de la industria farmacéutica mexicana durante 2012.	34
Gráfica 3. Resultados analíticos de los laboratorios de la primera compañía.	76
Gráfica 4. Resultados analíticos de los laboratorios de la segunda compañía.	76
Gráfica 5. TOST $\pm 2.0\%$ (0.50 mg/Tableta) comparaciones contra el Laboratorio A	81
Gráfica 6. TOST $\pm 2.0\%$ (0.50 mg/Tableta) comparaciones contra el Laboratorio B	81
Gráfica 7. TOST $\pm \delta\%$ (0.50 mg/Tableta) comparaciones contra el Laboratorio A	83
Gráfica 8. TOST $\pm \delta\%$ (0.50 mg/Tableta) comparaciones contra el Laboratorio B	83
Gráfica 9. Comparaciones contra el Laboratorio A, con n=10, 5, 3.	86
Gráfica 10. Comparaciones contra el Laboratorio B, con n=10,5,3	87
Gráfica 11. Intervalo de tolerancia de expectativa beta, comparaciones contra el Laboratorio A ...	92
Gráfica 12. Intervalo de tolerancia de expectativa beta, comparaciones contra el Laboratorio B ...	92
Gráfica 13. Perfiles de disolución Laboratorios T, R y S.....	106
Gráfica 14. Perfil de exactitud para determinación de quinina en agua tónica.	121

Índice de figuras:

Figura 1: Esquema general de una transferencia analítica por estudio comparativo entre dos laboratorios. Fuentes: (NOM-059-SSA1, 2015) (USP 39a Edición, 2016),	18
--	----

Figura 2. Fuentes de incertidumbre en un método analítico cromatográfico	55
Figura 3. Preparación típica de una muestra farmacéutica. Fuente: (Nickerson, 2011).....	58
Figura 4. Límites de especificación, tendencia y máxima diferencia aceptable.	70
Figura 5. Selección propuesta de criterios de aceptación para la prueba TOST en transferencias analíticas:	72

Acrónimos y Definiciones

ANMAT: Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica. Agencia Sanitaria de Argentina.

ANVISA: Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria. Agencia Sanitaria de Brasil.

AOAC: Asociación de Químicos Analistas Oficiales de los Estados Unidos de América, por sus siglas en inglés (Association of Official Analytical Chemists).

AV: Valor de aceptación en la prueba de uniformidad de dosis por sus siglas en inglés (Acceptance Value).

BPM o BPF: Buenas Prácticas de Manufactura o Buenas Prácticas de Fabricación.

CFR: Código de Regulaciones Federales, por sus siglas en inglés (Code of Federal Regulations).

COFEPRIS: Comisión Federal para la Protección contra el Riesgo Sanitario.

DIGEMID: Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas. Agencia Sanitaria de Perú.

EMA: Agencia Europea de Medicamentos, por sus siglas en inglés (European Medicines Agency).

EUDRALEX: European Drug Regulation Lexicon, Legislación emitida por la Unión Europea que gobierna la producción y distribución de medicamento.

Exactitud: Proximidad entre un valor medido y un valor verdadero de un mensurando. (Cuadros, 2013).

FDA: Administración de Drogas y Medicamentos de los Estados Unidos de América, por sus siglas en inglés (Food and Drug Administration).

FEUM: Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos.

GMP: Buenas Prácticas de Manufactura, por sus siglas en inglés (Good Manufacturing Practices).

GUM: Guía para la expresión de incertidumbre en la medición, por sus siglas en inglés (Guide to the expression of uncertainty in measurement).

ICH: Conferencia Internacional de Armonización, por sus siglas en inglés (International Conference on Harmonization).

IEC: Comisión Internacional Electrotécnica, por sus siglas en inglés (International Electro technical Commission).

INVIMA: Instituto Nacional de Medicamentos y Alimentos. Agencia Sanitaria de Colombia.

ISO: International Organization for Standardization, Organización Internacional de Normalización.

ISPE: International Society of Pharmaceutical Engineers, Sociedad Internacional de Ingenieros Farmacéuticos.

LIE: Límite inferior de la especificación.

LSE: Límite superior de la especificación.

NIST: Instituto Nacional de Estándares y Tecnología de los Estados Unidos de América, por sus siglas en inglés (National Institute of Standards and Technology).

NOM: Norma Oficial Mexicana

OMS, (WHO): Organización Mundial de la Salud, World Health Organization.

OTC: Medicamento de venta libre, concepto opuesto a los medicamentos de venta restringida que requieren prescripción médica.

PIC/S: Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme. Plan de cooperación de inspección farmacéutica.

PNO: Procedimiento Normalizado de Operación.

Precisión: Proximidad entre las indicaciones o los valores medidos obtenidos en medidas repetidas de un mismo objeto, o de objetos similares, bajo condiciones especificadas. (Cuadros, 2013)

RDC: Resolución del Directorio Colegiado, nombre de las resoluciones hechas por ANVISA.

Repetibilidad: la repetibilidad expresa la precisión bajo las mismas condiciones de operación durante un intervalo corto de tiempo. (De Bievre & Günzler, 2005)

Reproducibilidad: la reproducibilidad expresa la precisión entre laboratorios. (Estudios colaborativos usualmente aplicados a la estandarización de metodologías). (De Bievre & Günzler, 2005)

SSA: Secretaría de Salud, México.

SKU: Unidad de manejo de inventario, por sus siglas en inglés (Stock Keeping Unit); se refiere a un código identificador único de algún bien provisto por una compañía. Permite ordenar exactamente un artículo con características específicas.

TOST: *Dos pruebas de una cola*, por sus siglas en inglés (Two-One Sided Tests). Siglas utilizadas por Donald J. Schuirmann para referirse a la prueba estadística de equivalencia que propuso.

USD: Código ISO para designar el dólar estadounidense.

USP: Farmacopea de los Estados Unidos de América, por sus siglas en inglés (United States Pharmacopeia).

β -ETI: β -expectation tolerance interval, intervalo de tolerancia de expectativa beta.

INTRODUCCIÓN

Existen algunas actividades humanas productivas más reguladas que otras, es sabido que las compañías que se dedican a la industria aeroespacial, automotriz, del petróleo y gas, de seguros, del cuidado de la salud y de la alta tecnología electrónica deben cumplir con estándares regulatorios mucho más altos que el resto de las compañías.

Dentro del cuidado de la salud, la industria farmacéutica está altamente regulada, en México y en el resto de los países del mundo existen mecanismos de regulación gubernamental; asimismo, las compañías farmacéuticas tienen mecanismos de auto-regulación como políticas y directivas corporativas. La preocupación de las autoridades gubernamentales y de los organismos internacionales por la calidad de los medicamentos nace de la necesidad de mantener la salud de la población humana y extender la esperanza de vida de las personas.

Los estándares regulatorios se encuentran en constante actualización para asegurar mejor la identidad, pureza, potencia y efectividad de los medicamentos. Lo cual ha permitido que las muertes debido a mala calidad de medicamentos se hayan reducido y que existan medicamentos de buena calidad al alcance de un mayor porcentaje de la población. Actualmente los sistemas de gestión de calidad de una compañía farmacéutica deben cumplir con los estándares regulatorios emitidos por el ministerio de salud de sus países de origen y de los países a los cuales exporta productos la compañía, así como, con las directivas y políticas emitidas por la propia compañía.

Por lo general, los estándares regulatorios no detallan de manera exhaustiva toda la actividad que impacta la calidad del producto, sin embargo exigen que las compañías cuenten con registros trazables y fidedignos de cualquier actividad que impacte la calidad del producto y que cuenten con sustentos científicos y estadísticos válidos, para cada una de las actividades hechas por la compañía que

afectan la calidad del producto y por ende al consumidor final que en este caso es un paciente. Una de las actividades, relacionada con una decisión de negocio es el lanzamiento de un producto en un mercado diferente al de origen, o la transferencia de tecnología de una planta a otras, con la finalidad de aumentar el volumen de producción.

La presente monografía desarrollará el tema de la transferencia de métodos analíticos en la industria farmacéutica entre dos laboratorios analíticos, uno que desarrolla la metodología analítica y la transfiere y otro laboratorio que recibe la metodología, para utilizarla en el control de calidad rutinario de los productos farmacéuticos y durante el desarrollo de estudios de estabilidad de los mismos productos.

Es necesario contar con una base sólida que permita a la compañía afirmar con todo el sustento científico y estadístico que, el laboratorio receptor de la metodología es igualmente confiable en el análisis que el laboratorio de desarrollo y que el sustento es suficientemente sólido para producir resultados confiables en la operación rutinaria, misma que requiere llevar a cabo análisis de control de calidad de producto que será comercializado. Es importante mencionar también que la transferencia de métodos analíticos en la industria farmacéutica debe cumplir con los estándares regulatorios y con las expectativas de los inspectores regulatorios durante una auditoría a una compañía farmacéutica.

La monografía explora diferentes aspectos de las transferencias de métodos analíticos en la industria farmacéutica de moléculas pequeñas. Estos aspectos abarcan el tema regulatorio, es decir el texto de las normas regulatorias de cada país y de las organizaciones internacionales como ICH, EMEA o la OMS así como los aspectos científicos y estadísticos de la comparabilidad entre laboratorios, es decir el diseño de los experimentos para poder obtener resultados concluyentes, la naturaleza de las técnicas analíticas y las características fisicoquímicas de los productos.

OBJETIVOS

1. Proporcionar una definición de transferencia de métodos analíticos de control de calidad dentro del contexto de la industria farmacéutica y presentar las generalidades de dicho proceso de acuerdo a la regulación nacional e internacional.
2. Realizar una búsqueda exhaustiva de los lineamientos para transferencias de métodos analíticos de control de calidad en la normatividad nacional e internacional aplicable a buenas prácticas de fabricación de medicamentos de molécula pequeña y en farmacopeas; presentar comparativamente los requerimientos normativos y compendiales.
3. Proponer un modelo estadístico sólido de comparación de datos analíticos inter-laboratorio que permita cumplir con los requisitos regulatorios y tenga la capacidad de discernir un resultado aceptable de uno que no lo es con un alto nivel de confiabilidad; este objetivo se logrará mediante la revisión bibliográfica de pruebas estadísticas y sus aplicaciones.
4. Elaborar con toda esta información un procedimiento normalizado de operación que ofrezca lineamientos de selección de pruebas estadísticas de comparación y criterios de aceptación.

GENERALIDADES

Definición de transferencia analítica

La transferencia de tecnología se define en el numeral 3.121 de la NOM-059-SSA1-2015 como: *“un proceso sistemático que es seguido para pasar el conocimiento y la experiencia durante el desarrollo y/o comercialización a otra unidad responsable y autorizada. Este proceso incluye la transferencia de documentación y la capacidad demostrada de la unidad receptora del desempeño efectivo de los elementos críticos de la tecnología transferida hasta la satisfacción de las partes y cumplimiento de la normativa vigente.”*

Mientras tanto la Farmacopea de los Estados Unidos de América (USP), Edición 39 define una transferencia de procedimientos analíticos en el capítulo general <1224> como un *“Proceso documentado que califica a un laboratorio (la unidad receptora) para emplear un procedimiento de prueba analítico que se originó en otro laboratorio (la unidad que transfiere), con lo que se asegura que la unidad receptora cuente con el conocimiento adecuado sobre el procedimiento y la capacidad para llevar a cabo el procedimiento analítico transferido según lo previsto.”*

Aunque ambas definiciones difieren en forma, existen algunos conceptos básicos de la transferencia analítica de tecnología que ambas establecen y que son los fundamentos básicos de la misma, los cuales se enlistan a continuación:

- Se trata de un procedimiento documentado y sistemático; lo primero es muy importante en el ámbito farmacéutico.
- Lo que se transfiere entre los laboratorios es el conocimiento y la experiencia, ambos son conceptos abstractos; sin embargo durante el desarrollo del presente trabajo escrito se verá que existen maneras de evaluar el éxito de la transferencia del método analítico, desde un punto de vista cuantitativo.

- Existen dos unidades básicas, la unidad que origina el procedimiento analítico y la unidad receptora.

El objetivo de una transferencia de un método analítico es demostrar que los resultados emitidos por el laboratorio receptor de la transferencia son equivalentes a los resultados del laboratorio que transfiere la metodología.

En el caso de las pruebas cualitativas y las semi-cuantitativas, no es posible realizar una comparación estadística de los resultados de los laboratorios involucrados en una transferencia analítica debido a la naturaleza de los mismos. Únicamente se espera que el laboratorio receptor obtenga exactamente los mismos resultados que el laboratorio de desarrollo; el diseño experimental puede definir el uso de controles negativos o positivos en la realización de las pruebas, si se considera necesario.

En el caso de las pruebas cuantitativas se debe hacer la selección de una prueba estadística adecuada para tomar la decisión respecto al éxito de una transferencia analítica. Lo primero que hay que tener en consideración para poder hacer esta selección es la respuesta de la pregunta siguiente: ¿Qué es lo que buscamos probar durante una transferencia analítica?; la respuesta es sencilla: que los resultados del laboratorio que transfiere sean equivalentes a los resultados del laboratorio receptor, es decir que ambos laboratorios sean capaces de tomar las mismas decisiones de cumplimiento respecto a los lotes sometidos a control de calidad.

La igualdad solo podría darse si ambos laboratorios obtuvieran exactamente el mismo resultado numérico, por otra parte para el ejercicio de transferencia analítica se deberían analizar varias réplicas de un mismo lote y se obtendría una desviación estándar determinada, esta también tendría que ser igual entre laboratorios para que pudiera considerarse que ambos tomarían exactamente las mismas decisiones de cumplimiento.

Sin embargo lo anterior es en la práctica, simplemente imposible debido a varios factores, como la variabilidad inherente al proceso analítico, y por lo tanto se debe buscar un esquema de comparación que pruebe que los resultados son estadísticamente equivalentes y que la diferencia entre ellos no representa un riesgo significativo de tomar la decisión de cumplimiento equivocada.

¿A qué tipo de errores nos puede llevar una transferencia analítica?; primero debemos considerar la razón por la cual requerimos un método analítico de control de calidad; dicha razón es que el método analítico estará siendo utilizado por el laboratorio receptor para la liberación al mercado de lotes comerciales de medicamento, de materia prima para manufactura, de productos intermedios para pasos subsecuentes de manufactura, de estudios de estabilidad, etc. por lo tanto existe el riesgo de cometer dos tipos de errores que se enuncian en la tabla 2.

Tabla 1. Tipos de error

Dictamen analítico	El lote tiene la calidad requerida	El lote no tiene la calidad requerida
Resultado analítico en cumplimiento	Resultado satisfactorio	Error Tipo II
Resultado analítico en incumplimiento	Error de Tipo I	Resultado satisfactorio

Fuentes: (Hines & Montgomery, 2013), (De Fontenay, 2007)

Por obvias razones el error más peligroso en la operación rutinaria sería el error Tipo II, ya que llevaría a dictaminar como aceptable un lote que no cumple con la calidad mínima requerida en las especificaciones. Mientras que el error Tipo I representa un riesgo menor ya que normalmente bajo los procedimientos normalizados de operación que conforman el sistema de gestión de calidad en la industria farmacéutica un resultado analítico en incumplimiento no lleva

directamente al rechazo del lote sino que detona la realización de una investigación de laboratorio.

Tipos de transferencia analítica

La definición proporcionada por la NOM-059-SSA-059 es aplicable a la transferencia de tecnología de manufactura y de control de calidad. En su numeral 11.29 la Norma mencionada anteriormente define algunos tipos de transferencia de tecnología analítica:

1. De la unidad de investigación y desarrollo a un laboratorio de control de calidad. (Numeral 11.29.3.1)
2. De una unidad de investigación y desarrollo a un laboratorio de control de calidad (cuando alguna de estas unidades no se encuentra en México) o a un Tercero Autorizado. (Numeral 11.29.3.2)
3. De una compañía titular de un Registro Sanitario al laboratorio de control de calidad de un maquilador. (Numeral 11.29.3.3)

La línea de eventos temporales de una transferencia analítica depende de la ruta que se escoja para realizar dicha transferencia analítica; existen cuatro rutas diferentes de acuerdo al capítulo general <1224> de la Farmacopea de los Estados Unidos de América (USP 39a Edición, 2016), también detallada por Scypinski y otros (Scypinski, Roberts, Oates, & Etse, Marzo 2002).

Las cuatro categorías diferentes de transferencia se definen a continuación:

Estudio comparativo: en este tipo de transferencia analítica el laboratorio receptor analiza ciertos lotes de productos que previamente fueron analizados por el laboratorio emisor mediante un método validado. Los resultados deben ser comparables entre ambos laboratorios de acuerdo a los criterios de aceptación pre establecidos en el protocolo.

Co-validación entre dos laboratorios (emisor y receptor): en este tipo de transferencia analítica dos laboratorios escriben, aprueban y ejecutan un protocolo de validación realizando todas las pruebas típicas de un estudio de validación de métodos analíticos (precisión intermedia, linealidad, especificidad, etc.). Al haber validado ambos laboratorios el método se puede considerar que ambos son capaces de ejecutar el método para control de calidad rutinario.

Re-validación completa: En este caso no se realiza una transferencia del método analítico de índole comparativa. Simplemente se envía el procedimiento analítico de un laboratorio a otro y el laboratorio que lo recibe realiza una validación completa del método realizando todas las pruebas típicas de un estudio de validación de métodos analíticos (precisión intermedia, linealidad, especificidad, etc.)

Exención de la transferencia: No es una transferencia del método analítico tal cual, simplemente se concluye que existe una justificación científica para considerar que no es necesario un estudio como los tres descritos anteriormente. En estos casos se concluye que el laboratorio receptor ya cuenta con la capacidad de analizar el producto nuevo debido a que ya ejecuta un método analítico igual, el procedimiento analítico es monográfico y por tanto está descrito en un compendio como USP o FEUM, el laboratorio receptor ya realiza un método analítico muy similar, etc. Cuando esto ocurre es necesario documentar la razón por la cual se tomó la determinación de exentar al laboratorio receptor de realizar una transferencia. Este tipo de transferencia puede ser común para procedimientos analíticos, como por ejemplo pruebas de identidad.

Sin embargo, el capítulo general <1224> de la USP Edición 39 incluye una advertencia que dice “*Este capítulo no ofrece métodos estadísticos*”.

De todos los tipos de transferencia analítica el más común es el estudio comparativo. Debido a esta razón en este trabajo monográfico el enfoque está

dirigido a los estudios comparativos. Este tipo de estudio requiere la emisión de un protocolo para realizar el trabajo experimental.

En la Figura 1 se muestra una representación gráfica de una línea de tiempo de una transferencia de método analítico por estudio comparativo.

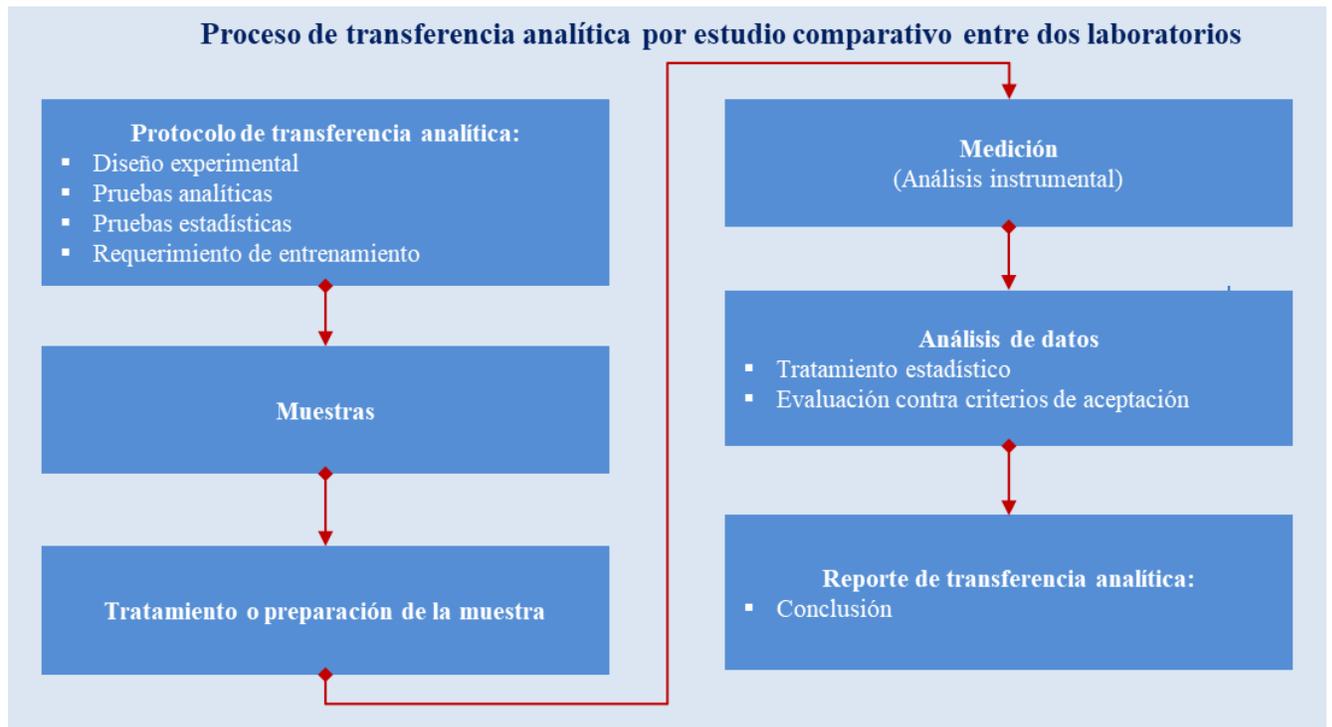


Figura 1: Esquema general de una transferencia analítica por estudio comparativo entre dos laboratorios. Fuentes: (NOM-059-SSA1, 2015) (USP 39a Edición, 2016)

Normalmente el desarrollo del protocolo es realizado por el laboratorio emisor; en la Figura 1 se detalla una línea de tiempo muy generalizada para la realización de una transferencia analítica por estudio comparativo. Cuando se redacta un protocolo de transferencia analítica el primer reto que enfrenta una compañía es la selección de las pruebas de comparación inter-laboratorio y naturalmente el segundo reto que se enfrenta es la selección de criterios estadísticos de aceptación que sin ser demasiado restrictivos permitan afirmar que los resultados de ambos laboratorios son comparables y la probabilidad de caer en errores es mínima.

Marco regulatorio y compendial

Los documentos regulatorios, compendiales y suplementarios emitidos por las agencias sanitarias de diversas naciones o de organizaciones internacionales pueden dividirse en tres grandes grupos (Tipos de guías, compendios y regulaciones):

1. Las normas regulatorias que tienen carácter de obligatoriedad. Su obligatoriedad depende del país de destino del medicamento así como del país de origen del mismo; estas normas regulatorias constituyen los estándares contra los cuáles los cuerpos de inspección de las agencias regulatorias conducen sus auditorías. En México, el ejemplo más obvio de esta categoría sería la NOM-059-SSA1-2015.
2. Los compendios, que normalmente proveen generalidades y monografías sobre la calidad de los medicamentos y sus materias primas. Las agencias regulatorias durante las auditorías esperan normalmente que los compendios formen uno de los pilares fundamentales de la operación de los sistemas de gestión de calidad de las compañías farmacéuticas. En nuestro país se encuentra actualmente en vigencia la 11^a Edición de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, (FEUM).
3. Las guías para la industria, las cuales normalmente sirven para proveer más información sobre la interpretación de las normas regulatorias; en ocasiones se presentan como ejemplos prácticos o en una estructura de preguntas y respuestas. (La FDA normalmente estructura sus guías en forma de preguntas y respuestas).

En nuestro país, este tipo de documentos suplementarios es poco común. La Comisión Federal para la Protección contra el Riesgo Sanitario (COFEPRIS), casi no emite guías porque la regulación mexicana tiende a tener un alto grado de detalle.

La situación contraria ocurre en los Estados Unidos de América, ya que el Código de Regulaciones Federales §21 CFR Título 21 Parte 211 provee disposiciones más escuetas y la FDA emite guías para complementar las disposiciones de la regulación. Un ejemplo de esto es la Guía para la Industria intitulada: “Analytical Procedures and Methods Validation for Drugs and Biologics” emitida en julio de 2015, dedicada a la validación de métodos analíticos.

El orden en el que son presentados los tipos de documentos en el bloque anterior corresponde con el orden de impacto que tienen en la redacción tanto de políticas y directivas corporativas en la industria farmacéutica como en la redacción de procedimientos normalizados de operación para la ejecución rutinaria de transferencias analíticas.

El primer gran bloque de documentos que debe considerar el profesional que escribe un documento que proporciona lineamientos corporativos para transferencias analíticas son las normas regulatorias. El segundo bloque está constituido por las generalidades proporcionadas por los compendios y el tercer bloque constituido por las guías de la industria, debe fungir como un apoyo en la interpretación del primer bloque, ya que explica la interpretación que hace la autoridad regulatoria de las normas.

Por otra parte una práctica común de la industria mexicana es recurrir a otra regulación internacionalmente reconocida cuando la regulación local es ambigua o no provee detalle suficiente. Esta práctica es aceptada rutinariamente por los inspectores de las agencias regulatorias; por ejemplo si la FEUM no provee suficiente detalle sobre un procedimiento analítico es aceptado recurrir a la USP en la búsqueda de guía para el mercado mexicano.

Normalmente en cada país existe una agencia reguladora de los medicamentos y otros insumos para la salud que depende del ministerio de salud, la cual es la encargada de emitir y actualizar los estándares de buenas prácticas de fabricación de medicamentos. Algunos otros estándares regulatorios son emitidos por

organizaciones supranacionales con la finalidad de proveer los requerimientos para comercializar productos en un bloque de países, como por ejemplo lo hace la EMEA en la Unión Europea.

En el ámbito de la industria farmacéutica se utiliza indistintamente el acrónimo BPF o BPM para referirse a los estándares de Buenas Prácticas de Fabricación o de Buenas Prácticas de Manufactura; mientras que en el ámbito internacional se utiliza el acrónimo GMP (*Good Manufacturing Practice*) el cual significa lo mismo. En ocasiones se adicionan una “c” al principio y una “s” al final, para referirse a ellas como “cGMPs” con la finalidad de transmitir al lector que se trata de “*Current Good Manufacturing Practices*” haciendo referencia a que se trata de más de una práctica y a que son las normas más recientes (“*Current*”).

Existen también guías para la industria que no tienen carácter de obligatoriedad, sin embargo, pretenden orientar a la industria y estandarizar los requerimientos y criterios dentro de la misma con la finalidad de mejorar la seguridad de los medicamentos y de facilitar el comercio internacional. Estas guías sirven para proveer mayor claridad respecto a los requerimientos regulatorios profundizando en la interpretación de las agencias regulatorias de sus propios estándares normativos.

La tabla 2 se muestran los estándares, normas y guías de buenas prácticas de fabricación que serán referenciados y utilizados en el presente trabajo escrito; la lista no pretende ser exhaustiva de todos los documentos existentes en el mundo pero sí pretende ser exhaustiva para la comercialización de productos farmacéuticos de molécula pequeña en México, Estados Unidos de América, Canadá, la Unión Europea (incluyendo el Reino Unido) y algunos de los países más relevantes de América Latina (Argentina, Brasil, Perú y Colombia). La finalidad de incluir otros estándares en la lista es con fines comparativos y para facilitar la toma de decisiones.

Tabla 2: Estándares de Buenas Prácticas de Fabricación

Estándar	Versión vigente	Alcance geográfico	Agencia Emisora	Carácter
NOM-059-SSA1 "Buenas prácticas de fabricación de medicamentos"	1 de agosto de 2015	México	COFEPRIS	Obligatorio
CFR 21, Title 21, Chapter I, Subchapter C, Part 211 "Current good manufacturing practice for finished pharmaceuticals"	17 de septiembre de 2015	Estados Unidos de América	FDA <i>Food and Drug Administration</i>	Obligatorio
"Analytical procedures and methods validation for drugs and biologics"	Julio de 2015	Estados Unidos de América	FDA	Guía para la industria (Voluntaria)
C.R.C. c.870 C.02.001 "GMP's"	9 de febrero de 2016	Canadá	Health Canada	Obligatorio
GUI-0001 "Good manufacturing practices (GMP) guidelines"	4 de marzo de 2011	Canadá	Health Canada	Guía para la industria (Voluntaria)
EudraLex, Volumen 4, Parte 1, Capítulo 6, "EU Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and veterinary Use"	28 de marzo de 2014	Unión Europea	EC Comisión Europea	Obligatorio
ICH Q2 (R1) "Validation of Analytical Procedures Text and Methodology"	Noviembre de 2005	Unión Europea, EEUU, Japón. Existen otros estados observadores entre los cuales se encuentra México.	Conferencia Internacional de Armonización	Guía para la industria
PE 009-12 "Guide to good manufacturing practice for medicinal products Part I"	1 de octubre de 2015	Países miembros de PIC/S	PIC/S Secretariat Secretaría del esquema de cooperación de inspección farmacéutica	Guía para la industria (Obligatorio para considerar válida una auditoría regulatoria en más de un país miembro)

Estándar	Versión vigente	Alcance geográfico	Agencia Emisora	Carácter
				del esquema PIC/S)
Resolución RDC-017-2010	16 de abril de 2010	Brasil	ANVISA Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria	Obligatorio
Resolución RDC-899-2003	29 de mayo de 2003	Brasil	ANVISA	Obligatorio
Resolución Número 003619	17 de septiembre de 2013	Colombia	INVIMA Instituto Nacional de Medicamentos y Alimentos	Obligatorio
Disposición Número 5469/2010 Adoptando el Informe No. 37 de la OMS (Technical Report Series 908)	20 de septiembre de 2010	Argentina	ANMAT Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica	Obligatorio
Resolución Ministerial No 055-99.SA/DM "Manual de Buenas Prácticas de Manufactura de Productos Farmacéuticos."	8 de febrero de 1999	Perú	DIGEMID Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas	Obligatorio
Orange Guide: " <i>Rules and Guidance for Pharmaceutical Manufacturers and Distributors</i> "	2017	Reino Unido de Inglaterra, Gales, Escocia e Irlanda del Norte	MHRA Agencia Regulatoria de Medicamentos y Productos para el cuidado de la salud	Obligatorio

También existen compendios que son actualizados con mucha mayor frecuencia que las normas y conjuntan toda la información general y específica respecto a fármacos, excipientes o medicamentos. Estas publicaciones ofrecen información monográfica respecto a los ingredientes activos o excipientes así como respecto a los medicamentos en cualquier forma farmacéutica y proporcionan información general para los laboratorios de control de calidad y para las plantas de manufactura de medicamentos. Los compendios que se utilizarán como referencia en el presente trabajo escrito son:

Tabla 3: Compendios utilizados como referencia

Compendio	Edición vigente	País	Entidad emisora
Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM)	11	México	Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos
Farmacopea de los Estados Unidos de América (USP) Formulario Nacional (NF)	39/34	Estados Unidos de América	United States Pharmacopeial Convention
La Farmacopea Internacional	5	Países miembros de la OMS	Organización Mundial de la Salud

Fuente: (Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos 11a Edición, 2014) (USP 39a Edición, 2016)

La primera cita por relevancia es la NOM-059-SSA1-2015 “Buenas prácticas de fabricación de medicamentos”. La primera referencia que hace a validación de métodos analíticos está en los numerales 9.12 y subsecuentes:

“9.12 Validación de métodos analíticos.

9.12.1 Los métodos analíticos no farmacopeicos deben validarse conforme a sus protocolos considerando lo indicado en la FEUM.

9.12.2 Cuando se utilizan métodos farmacopeicos, se debe demostrar la verificación del sistema y su aplicabilidad al producto, bajo las condiciones de operación del laboratorio.”

La norma es específica respecto a la transferencia de métodos analíticos y destina el numeral 11.29 y subsecuentes a describir los requerimientos específicos:

“11.29 Transferencia de métodos analíticos.

11.29.1 *Antes de transferir un método analítico, el laboratorio que transfiere debe verificar que los métodos analíticos cumplen con lo reportado en el dossier técnico correspondiente.*

La validación original del método debe realizarse para asegurar el cumplimiento de los requisitos para la transferencia.

11.29.2 *Debe documentarse y evaluarse cualquier modificación a la validación original que se haya realizado antes de iniciar con el proceso de transferencia.*

11.29.3 *Tipos de Transferencia de métodos analíticos, entre los que se encuentran:*

11.29.3.1 *De la unidad de desarrollo analítico al laboratorio de control de calidad.*

11.29.3.2 *De la unidad de desarrollo o del laboratorio de control de calidad de una planta del extranjero a una filial en México o a un tercero autorizado.*

11.29.3.3 *De un titular de registro a un maquilador.*

11.29.4 *Para una transferencia analítica se deben tener en cuenta los siguientes factores:*

11.29.4.1 *La unidad receptora debe tener instalaciones, equipos, instrumentos y personal calificados para los métodos a transferir.*

11.29.4.2 *Debe contarse con protocolos y metodologías analíticas de los métodos a transferir.*

11.29.4.3 *El protocolo de transferencia debe incluir, al menos:*

11.29.4.3.1 *Descripción del ensayo a realizar y los métodos analíticos relevantes que se transfieren;*

11.29.4.3.2 *Identificación de cualquier requisito adicional;*

11.29.4.3.3 Identificación de los estándares de referencia y las muestras a analizarse;

11.29.4.3.4 Descripción e identificación de cualquier condición especial de transporte y conservación de los productos, estándares y reactivos a ser utilizados;

11.29.4.3.5 Los criterios de aceptación que deben basarse en el estudio de validación vigente de la metodología y de los requerimientos normativos.”

La regulación mexicana es muy específica al respecto del requerimiento de las transferencias analíticas (la norma clasifica los estudios de transferencia en tres tipos de acuerdo a su origen y su destino) y establece tres pre-requisitos muy claros para realizar la transferencia de la metodología analítica. Asimismo establece cinco requisitos para la elaboración del protocolo.

La Parte 211 (Capítulo 1, Sub-capítulo C) del título 21 del Código de Regulaciones Federales de los Estados Unidos de América: “*Current good manufacturing practice for finished pharmaceuticals*”. En la Sub-parte I “*Laboratory controls*” se encuentra el siguiente texto:

§211.160 Requerimientos generales

(a) El establecimiento de cualquier especificación, norma, plan de muestreo, procedimiento de análisis, o cualquier otro mecanismo de control de laboratorio requerido por esta sub-parte incluyendo cualquier cambio en dichas especificaciones, normas, planes de muestreo, procedimientos de análisis o cualquier otro mecanismo de control de laboratorio, debe ser redactado preliminarmente por la unidad organizacional apropiada y revisada y aprobada por la unidad de control de calidad. Los requerimientos en esta sub-parte deben ser seguidos y deben ser documentados en el momento en que son realizados. Cualquier desviación de las especificaciones escritas, normas, planes de

muestreo, procedimientos de análisis o cualquier otro mecanismo de control de laboratorio debe ser registrada y justificada.

(b) Los controles de laboratorio deben incluir el establecimiento de especificaciones, normas, planes de muestreo y procedimientos de análisis apropiados y científicamente sólidos, diseñados para asegurar que los componentes, contenedores de medicamento, mecanismos de cierre, materiales intermedios, etiquetas y medicamentos cumplan con estándares apropiados de identidad, potencia, calidad y pureza. Los controles de laboratorio deben incluir:

(1) Determinación de conformidad con especificaciones escritas aplicables para la aceptación de cada lote dentro de cada embarque de componentes, contenedores de medicamento, mecanismos de cierre, y etiquetas utilizadas en la manufactura, procesamiento, empaçado o retención de medicamentos. Las especificaciones deben incluir una descripción de los procedimientos de muestreo y análisis que se utilizarán. Las muestras deben ser representativas y adecuadamente identificadas. Dichos procedimientos deben incluir también el re-análisis de cualquier componente, contenedor de medicamento o mecanismo de cierre que esté sujeto a deterioro.

(2) Determinación de conformidad con especificaciones escritas y una descripción de los procedimientos de muestreo y análisis para materiales intermedios. Dichas muestras deben ser representativas y estar debidamente identificadas.

(3) Determinación de conformidad con descripciones escritas de procedimientos de muestreo y especificaciones apropiadas para medicamentos.

(4) La calibración de instrumentos, aparatos, calibradores y dispositivos de registros debe ser realizada a intervalos adecuados de acuerdo con un programa escrito establecido que contenga instrucciones específicas, agendas, límites de exactitud y precisión y provisiones para tomar acciones paliativas en caso de que los límites de exactitud y precisión no se cumplan. Los instrumentos, aparatos,

calibradores y dispositivos de registro que no cumplan las especificaciones establecidas no deben ser utilizados.

El siguiente requerimiento hace referencias más claras a las características de un método analítico de control de calidad:

§211.165 Análisis y liberación para distribución

(a) Para cada lote de medicamento, debe existir una determinación apropiada en el laboratorio de conformidad con las especificaciones finales para el medicamento, incluyendo la identidad y potencia de cada ingrediente activo antes de la liberación. Cuando la determinación de esterilidad y/o el análisis de pirógenos sean conducidos en lotes específicos de radiofármacos de vida media corta, dichos lotes pueden ser liberados antes de que se complete el análisis de esterilidad y/o pirógenos siempre y cuando dichos análisis se completen lo más pronto posible.

(b) Debe existir un análisis de laboratorio apropiado, conforme sea necesario de cada lote de producto que deba estar libre de microorganismos objetables.

(c) Cualquier plan de muestreo y análisis debe estar descrito en procedimientos escritos que deben incluir el método de muestreo y el número de unidades por lote que serán analizadas; dicho procedimiento debe ser seguido.

(d) Los criterios de aceptación para el muestreo y análisis conducido por la unidad de control de calidad deben ser adecuados para asegurar que los lotes de medicamento cumplen cada especificación y control de calidad estadístico apropiado como una condición para su aprobación y liberación. Los criterios de liberación estadísticos deben incluir niveles apropiados de aceptación y/o niveles apropiados de rechazo.

(e) La especificidad, sensibilidad, reproducibilidad y exactitud de los métodos de análisis empleados por la firma deben ser establecidos y documentados. Dichas

validación y documentación pueden ser alcanzadas de acuerdo con §211.194(a)(2).

(f) Los medicamentos que fallen en el cumplimiento de las normas y especificaciones establecidas y cualquier otro control de calidad relevante deben ser rechazados. Se puede llevar a cabo reprocesamiento. Antes de su aceptación y uso, el material reprocesado debe cumplir con normas y especificaciones apropiadas y cualquier otro criterio relevante.

Esta sección del texto hace una última referencia a §211.194(a)(2) del mismo estándar regulatorio cuyo texto se cita a continuación:

§211.194(a) (2) Una declaración de cada método utilizado en el análisis de la muestra que debe incluir la localización de datos que establezcan que los métodos utilizados en el análisis de la muestra cumplen con estándares apropiados de exactitud y confiabilidad cuando se aplican al producto analizado.

(Si el método empleado está en la versión vigente de la Farmacopea de los Estados Unidos, el Formulario Nacional, AOAC Internacional, o en cualquier otro estándar de referencia reconocido, o está detallado en una aplicación de medicamento nuevo aprobada y el método de referencia no es modificado, una declaración del método y la referencia será suficiente). La adecuabilidad de todos los métodos utilizados debe ser verificada bajo las condiciones reales de uso.

El Código de Regulaciones Federales no es tan específico como la Norma Oficial Mexicana, sin embargo, establece que los métodos analíticos para control de calidad de medicamentos deben ser científicamente válidos y establece que la organización misma debe probar la robustez del método.

La regulación brasileña especifica requerimientos normativos para las transferencias analíticas, la Resolución del Directorio Colegiado de ANVISA No. 899 incluye un párrafo al respecto:

“En el caso de transferencias de metodologías de las casas matrices a una subsidiaria en Brasil y/o de compañías nacionales al centro de estudios de equivalencia, la metodología será considerada validada, siempre y cuando los parámetros de precisión, especificidad y linealidad sean evaluados. Una copia de toda la documentación original referente a la validación de la metodología debe adjuntarse, como prueba de que la metodología fue originalmente validada y debe contener por lo menos todos los parámetros enlistados en el párrafo 1.7” (El párrafo 1.7 de dicha regulación enumera especificidad, linealidad, rango, precisión, límite de detección, límite de cuantificación, exactitud y robustez como parámetros de validación).

La forma de evaluar la precisión, la linealidad y la especificidad se pueden encontrar en la misma regulación brasileña o bien en ICH Q2A.

Tabla 4. Precisión, especificidad y linealidad

Parámetro	RDC No. 899 ANVISA	ICH Q2A
Precisión	<p>2.4. Precisión. La precisión es la cercanía de los resultados obtenidos en una serie de medidas de un muestreo múltiple de la misma muestra. Se considera a tres niveles.</p> <p>2.4.3. Reproducibilidad (precisión inter-laboratorios): coincidencia entre los resultados de diferentes laboratorios como un estudio colaborativo, generalmente aplicado a la estandarización de metodología analítica, por ejemplo, la inclusión de metodología en farmacopeas. Estos datos deben ser presentados para la concesión del registro.</p> <p>La precisión de un método analítico puede ser expresada como la desviación estándar o la desviación estándar relativa (coeficiente de variación) de una serie de medidas. La precisión puede ser expresada como la desviación estándar relativa (RSD) o coeficiente de variación (CV), de acuerdo a la fórmula:</p>	<p>Precisión. La validación de pruebas para ensayo y para cuantificación de impurezas incluye una investigación de la precisión.</p> <p>5.3. Reproducibilidad. Se evalúa por medio de una prueba inter-laboratorios. La reproducibilidad debe ser considerada en caso de la estandarización de procedimientos analíticos para su inclusión en las farmacopeas. Estos datos no son parte del dossier de autorización de comercialización.</p>

Parámetro	RDC No. 899 ANVISA	ICH Q2A
	$RSD = \frac{SD}{ACD} * 100$ <p>Donde SD es la desviación estándar y ACD es la concentración promedio detectada.</p> <p>El valor máximo aceptable debe ser definido de acuerdo a la metodología empleada, la concentración del analito en la muestra, el tipo de matriz y el propósito del método, valores por encima de 5% no son aceptados.</p>	
Especificidad	<p>2.1. Especificidad. Es la capacidad del método de medir exactamente un compuesto en la presencia de otros componentes como impurezas, productos de degradación y componentes de la matriz.</p> <p>2.1.2. Para análisis cuantitativo (contenido) y análisis de impurezas, la especificidad puede ser determinada por comparación de los resultados obtenidos de muestras (principio activo o producto terminado) contaminadas con porcentajes apropiados de impurezas o excipientes y muestras no contaminadas, para demostrar que los resultados de la muestra no se ven afectados por estos materiales. En la ausencia de impurezas o estándares de los productos de degradación, la especificidad del método puede ser determinada comparando los resultados del análisis de las muestras con impurezas o productos de degradación con los resultados de un segundo procedimiento analítico bien caracterizado (por ejemplo un método farmacopeico). Estas comparaciones deben incluir muestras bajo condiciones de estrés (luz, calor, humedad, hidrólisis ácida/básica y oxidación).</p> <p>2.1.3. En métodos cromatográficos, deben tomarse las precauciones necesarias para garantizar la pureza</p>	<p>La especificidad debe ser conducida durante la validación de las pruebas de identificación, determinación de impurezas y ensayo.</p> <p>Los procedimientos utilizados para demostrar especificidad dependerán del objetivo del procedimiento analítico.</p> <p>No siempre es posible demostrar que un procedimiento analítico es específico para un analito particular (discriminación completa). En este caso una combinación de dos o más procedimientos analíticos se recomienda para alcanzar el nivel necesario de discriminación.</p> <p>(El resto de las disposiciones son similares a las indicadas por la regulación brasileña, haciendo hincapié en la diferencia de cuando se dispone de estándares de impurezas y productos de degradación y cuando no están disponibles).</p>

Parámetro	RDC No. 899 ANVISA	ICH Q2A
	de los picos cromatográficos. El uso de pruebas de pureza de picos (por ejemplo con la ayuda de un arreglo de foto-diodos o espectrometría de masas) es importante para demostrar que el pico cromatográfico puede ser atribuido a un único componente.	
Linealidad	<p>2.2. Linealidad. Es la capacidad de una metodología analítica para demostrar que los resultados obtenidos son directamente proporcionales a la concentración del analito en la muestra, dentro de un intervalo especificado.</p> <p>2.2.1. Se recomienda que la linealidad sea determinada por el análisis de al menos 5 diferentes concentraciones. Estas concentraciones deben seguir el intervalo del 80 al 120%.</p> <p>2.2.2. Si existe una relación lineal aparente después de un examen visual de la gráfica, los resultados de las pruebas deben ser tratadas con métodos estadísticos apropiados para la determinación del coeficiente de correlación, intersección con el eje Y, coeficiente angular, adición residual de los cuadrados mínimos de la regresión lineal y la desviación estándar relativa. Si no existe relación lineal, realizar una transformación matemática.</p> <p>2.2.3. El criterio mínimo aceptable del coeficiente de correlación (r) debe de ser = 0.99.</p> <p>2.2.4. Las curvas obtenidas deben ser presentadas (desde el experimento y desde el resultado del tratamiento matemático)</p>	<p>Una relación lineal debe ser evaluada a través del rango del procedimiento analítico. Puede ser demostrada directamente en el principio activo (por dilución de una solución stock de estándar) y/o por pesadas separadas de mezclas sintéticas de los componentes del producto, utilizando el procedimiento propuesto. El último aspecto puede ser estudiado durante la investigación del rango.</p> <p>La linealidad debe ser evaluada mediante inspección visual de una gráfica de las señales como una función de la concentración de analito. Si existe una relación lineal, los resultados de las pruebas deben ser evaluados mediante métodos estadísticos apropiados, por ejemplo, mediante el cálculo de la línea de regresión por el método de los cuadrados mínimos. En algunos casos, para obtener linealidad entre ensayos y concentraciones de muestra, los datos pueden ser sujetos a una transformación matemática previo al análisis de regresión. Los datos de la línea de regresión por si mismos pueden ser útiles para proveer estimados matemáticos del grado de linealidad. El coeficiente de correlación, el intercepto del eje Y, la pendiente de la línea de regresión y la suma de cuadrados residual deben ser obtenidos. Una gráfica de los datos debe incluirse. En adición un análisis de la desviación de los puntos reales de la línea de regresión puede ser de ayuda para evaluar la linealidad.</p>

En el año de 2014, se actualizó el capítulo 6 del volumen 4 de EudraLex (vigente desde el 1 de octubre de 2014), para incluir una sección nueva de transferencia técnica de métodos de prueba, sin embargo, la misma no sugiere tipos de pruebas para evaluación.

Contexto económico de la industria farmacéutica Mexicana.

La industria farmacéutica en México es una industria muy importante. La siguiente tabla presenta algunas cifras clave de la industria farmacéutica en México, con la finalidad de dar un panorama de la envergadura del mercado farmacéutico en nuestro país:

Tabla 5: Panorama de la industria farmacéutica en México

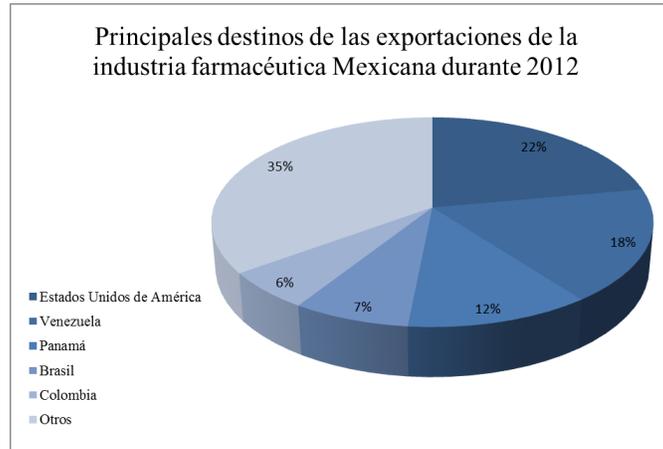
Rubro	Monto y unidades
Consumo de productos farmacéuticos en 2014	\$16,916,000,000.00 (USD)
Importaciones de la industria farmacéutica en 2015	\$4,804,000,000.00 (USD)
Exportaciones de la industria farmacéutica en 2015	\$1,985,000,000.00 (USD)
Producción de la industria farmacéutica en 2014	\$11,430,000,000.00 (USD)
Inversión extranjera directa. (Acumulada en el periodo 2005-2015)	\$3,516,000,000.00 (USD)
Número de empleados en 2014	59,386 personas

Fuente: (García Correa, 2015)

Estos datos nos dan a entender que la cadena de suministro de medicamentos está altamente globalizada y, un país como México depende de otros países para poder satisfacer las necesidades de su población en cuanto a medicamentos y también exporta medicamentos a otros países.

La siguiente gráfica muestra los principales destinos de las exportaciones farmacéuticas mexicanas.

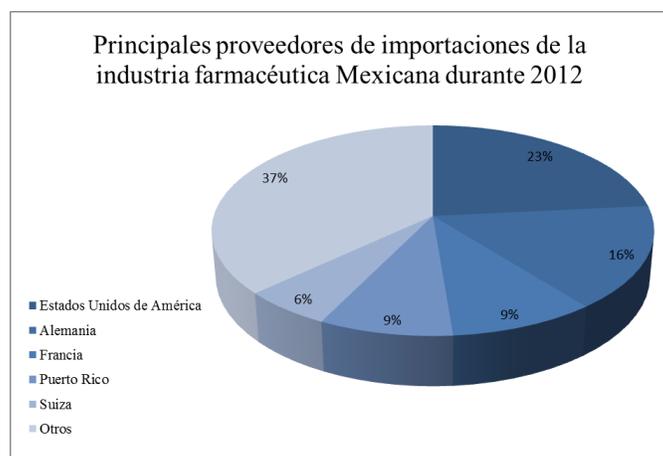
Gráfica 1: Principales destinos de las exportaciones de la industria farmacéutica mexicana durante 2012.



Fuente: (Pérez Zazueta, 2016)

Los productos farmacéuticos manufacturados en México tienen como principal destino a los Estados Unidos de América y los países de América Latina; México es un país signatario del Tratado de Libre Comercio de América del Norte lo cual facilita la comercialización de sus productos en los Estados Unidos de América, además cuenta con diversos acuerdos comerciales con los países de Latinoamérica los cuales fomentan el comercio al reducir las barreras arancelarias. (Pérez Zazueta, 2016)

Gráfica 2: Principales proveedores de importaciones de la industria farmacéutica mexicana durante 2012.



Fuente: (Pérez Zazueta, 2016)

El panorama de la industria farmacéutica mexicana es de constante crecimiento; México es un importante importador de productos hechos en la Unión Europea y en E.E.U.U. a la vez que también es un importante proveedor del mercado estadounidense y latinoamericano. El comercio farmacéutico internacional es la causa de la importancia de contar con mecanismos científicos y estadísticos sólidos para transferencias analíticas.

Planteamiento del problema

Las normas mexicanas e internacionales no proveen criterios de aceptación, pruebas estadísticas ni diseños experimentales que sean de utilidad al escribir un protocolo de transferencia. Incluso algunas no mencionan explícitamente el concepto de transferencia analítica. Únicamente la regulación brasileña pide evaluar la precisión, linealidad y especificidad.

En la siguiente tabla se muestran los estándares mencionados en la sección dedicada al marco regulatorio. (Se omiten las normas mexicana, estadounidense y brasileña debido a que ya fueron citadas con anterioridad.) Las versiones consultadas son las mismas que las localizadas en la sección dedicada al marco regulatorio:

Tabla 6. Texto de la normatividad internacional

Estándar y texto
<p><i>“Analytical procedures and methods validation for drugs and biologics”</i></p> <p><i>B. Estudios de comparabilidad de métodos analíticos</i> <i>2. Estudios de transferencia de métodos analíticos</i> <i>La transferencia de métodos analíticos es típicamente manejada bajo un protocolo que detalla los parámetros que serán evaluados en adición a los criterios de aceptación predeterminados que serán aplicados a los resultados. Los estudios de transferencia usualmente involucran dos o más laboratorios o sitios (laboratorio originador y receptor(es)) que ejecutan el protocolo de transferencia pre-aprobado. Un número suficiente de artículo para análisis representativo (por ejemplo mismos lotes del activo o producto) son utilizados por el laboratorio originador y los laboratorios receptores. Los estudios comparativos son realizados para evaluar la exactitud y la precisión, especialmente con respecto a la evaluación de variabilidad interlaboratorio. En los casos en los que el procedimiento analítico transferido sea también un método indicativo de estabilidad, muestras degradadas intencionalmente o muestras adicionadas con las impurezas relacionadas pertinentes deberían ser analizadas en ambos laboratorios. El Capítulo General <1224></i></p>

<i>Transferencia de Procedimientos Analíticos de la USP provee una guía adicional en este tópico.</i>
C.R.C. c.870, C.02.001, “Good manufacturing practices”
No incluye ninguna provisión en particular.
GUI-0001 “Good manufacturing practices (GMP) guidelines”
<i>C.02.018 2. Los métodos analíticos están validados, y los resultados de dicha validación están documentados. Los estudios de transferencia de métodos son conducidos cuando aplique.</i>
EudraLex, Volumen 4, Parte 1, Capítulo 6 “EU Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and veterinary Use”
<p><i>Transferencia técnica de métodos analíticos</i></p> <p><i>6.37 Antes de transferir un método, el sitio que transfiere debe verificar que los métodos analíticos cumplan con la descripción hecha en la Autorización de Comercialización o el dossier técnico relevante. La validación original de los métodos analíticos debe ser revisada para asegurar cumplimiento con los requerimientos de ICH/VICH. Un análisis de riesgo debe realizarse y documentarse para identificar cualquier validación suplementaria que deba ser realizada, antes de comenzar el proceso de la transferencia técnica.</i></p> <p><i>6.38 La transferencia de métodos analíticos de un laboratorio a otro (laboratorio receptor) debe estar descrita en un protocolo detallado.</i></p> <p><i>6.39 El protocolo de transferencia debe incluir, sin ser limitativo, los siguientes parámetros:</i></p> <p><i>i. Identificación del análisis que se realizará y los métodos analíticos relevantes que serán transferidos.</i></p> <p><i>ii. Identificación de requerimientos adicionales de entrenamiento.</i></p> <p><i>iii. Identificación de los estándares y las muestras que serán analizadas.</i></p> <p><i>iv. Identificación de cualquier condición especial de transporte y almacenamiento de las muestras.</i></p> <p><i>v. Los criterios de aceptación que deben estar basados en el estudio vigente de validación de la metodología y con respecto a los requerimientos de ICH/VICH.</i></p> <p><i>6.40 Las desviaciones del protocolo deberán ser investigadas previo al cierre del proceso de transferencia técnica. El reporte de transferencia técnica debe documentar el resultado comparativo del proceso y debe identificar áreas que requieran revalidación de métodos adicional si es aplicable.</i></p> <p><i>6.41 Cuando sea apropiado, los requerimientos específicos descritos en otras Guías Europeas, deben ser considerados para la transferencia de métodos analíticos particulares. (Por ejemplo Espectroscopía de Infrarrojo Cercano.)</i></p>
ICH Q2 (R1) “Validation of Analytical Procedures Text and Methodology”
No incluye ninguna provisión en particular.
PE 009-12 “Guide to good manufacturing practice for medicinal products Part I”
<i>4.29 Deben existir políticas, procedimientos, protocolos, reportes por escrito y los registros asociados de las acciones tomadas o las conclusiones alcanzadas, cuando sea apropiado para los siguientes ejemplos:</i>
<i>-Transferencia de tecnología</i>
Resolución-017-2010
No incluye ninguna provisión en particular.
Resolución Número 003619
No incluye ninguna provisión en particular.

Disposición Número 5469/2010
Adoptando el Informe No. 37 de la OMS (Technical Report Series 908)
No incluye ninguna provisión en particular.
Resolución Ministerial No 055-99.SA/DM “Manual de Buenas Prácticas de Manufactura de Productos Farmacéuticos.”
No incluye ninguna provisión en particular.
Orange Guide “Rules and Guidance for Pharmaceutical Manufacturers and Distributors” (2015)
Alineado textualmente a EudraLex.

La regulación y guías consultadas no indican ningún requisito especial, aparte de la necesidad de contar con un protocolo pre aprobado. A continuación se muestra la información encontrada en compendios:

Tabla 7. Texto de la FEUM y la USP

Compendio, sección y contenido
FEUM 11ª Edición
No contiene ninguna disposición en particular.
USP 39ª Edición
La USP incluye el capítulo general <1224>, que de acuerdo al sistema de numeración (Número superior a 1000) es un capítulo de carácter informativo y no requerido, incluye una clasificación de las transferencias analíticas. (DeStefano, 2016) Incluye además elementos recomendados para la transferencia de procedimientos analíticos; como se mencionó anteriormente el capítulo no ofrece métodos estadísticos.

La información encontrada en la USP sirve para estructurar la base de un procedimiento para elaboración de protocolos pero no provee criterios directos o estadísticos de comparación. En su artículo “*In defense of USP singlet testing*”, Torbeck resalta una idea muy interesante que puede explicar la razón por la cual ni las organizaciones compendiales ni las agencias regulatorias proveen criterios estadísticos; Torbeck señala que si las pruebas y criterios estadísticos fueran incluidos en los textos oficiales las compañías farmacéuticas tendrían muy pocos incentivos para desarrollar procedimientos novedosos que sirvieran para la mejora continua. (Torbeck, 2005).

Sentadas las bases regulatorias de una transferencia de un método analítico de control de calidad de productos farmacéuticos, podemos concluir que es necesario

contar con un sustento científico de las pruebas y criterios de aceptación que se utilicen para determinar si la transferencia fue o no exitosa.

El único documento que provee pruebas y criterios para una transferencia analítica es el Reporte 961 de 2011 de la *WHO Guidelines on transfer of technology in pharmaceutical manufacturing*; el cual sugiere algunas pruebas, criterios e incluso diseños experimentales, las recomendaciones plasmadas en este documento no tienen ninguna obligatoriedad; pero constituyen una excelente fuente de información, asimismo la guía ISPE de buenas prácticas de transferencia es también una buena fuente. Ambas se detallan a continuación:

Reporte Técnico No. 961 de la OMS:

La posición de la OMS con respecto a la transferencia de tecnología; se señala en el reporte No. 961 de 2011. “*WHO Guidelines on transfer of technology in pharmaceutical manufacturing*”. El documento considera la transferencia de tecnología completa, no es exclusivo de la transferencia de métodos analíticos de control de calidad, sin embargo dedica el capítulo 6 a este tema, incluye una categorización de pruebas analíticas junto con consideraciones para la transferencia, diseño experimental y dos tipos de criterios de aceptación: de comparación directa y estadísticamente derivados. Este reporte técnico de la OMS es el documento más rico en cuanto a criterios de aceptación y lineamientos; el mismo documento define que estos criterios son sugeridos y pueden utilizarse otros dependiendo de la naturaleza del medicamento involucrado. Este Reporte Técnico puede ser de gran utilidad al proveer criterios directos o estadísticos de comparación; aunque menciona que los valores son ejemplos más que recomendaciones:

Tabla 8. Diseños experimentales y criterios de aceptación para análisis de productos terminados y a granel (World Health Organization, 2011)

Prueba	Consideraciones para la transferencia	Réplicas de la prueba	Diseño	Criterio de aceptación directo	Criterio de aceptación estadísticamente derivado
Identidad	La transferencia se debe enfocar en la preparación de la muestra, instrumentos, interpretación de los datos. Es aceptable incluir la identidad del ensayo si es relevante.	Usualmente una determinación es suficiente para demostrar equivalencia.	***	***	***
Ensayo de potencia	Un ensayo no específico no debe ser utilizado para análisis de estabilidad. El bracketing puede ser apropiado para dosis múltiples.	En cada sitio: 2 analistas x 3 lotes, en triplicado. (=18 por sitio)	Diferentes instrumentos y columnas. Preparación independiente de muestras.	Comparación de media y variabilidad.	Dos pruebas t de un extremo, (<i>TOST. Two-One Sided t Tests</i>) con diferencias inter-sitio $\leq 2\%$, 95% de confianza.
Prueba de	Si el método es	En cada sitio 2	Diferentes	La media del	Dos pruebas t de

Prueba	Consideraciones para la transferencia	Réplicas de la prueba	Diseño	Criterio de aceptación directo	Criterio de aceptación estadísticamente derivado
uniformidad de dosis	equivalente al método de ensayo, usualmente una transferencia separada no es requerida.	analistas x 1 lote (= 2 por sitio)	instrumentos y columnas. Preparación independiente de muestras.	sitio receptor de debe encontrar dentro de $\pm 3\%$ de la media del sitio transmisor; comparación de la desviación estándar.	un extremo, (<i>TOST. Two-One Sided t Tests</i>) con diferencias inter-sitio $\leq 3\%$, 95% de confianza.
Disolución	El bracketing puede ser apropiado para dosis múltiples.	6 unidades (12 si las determinaciones no son rutinarias en el sitio transmisor y para productos de liberación prolongada).	***	La media del sitio receptor de debe encontrar dentro de $\pm 5\%$ de la media del sitio transmisor.	Comparación de perfiles (F^2), o comparación de datos en los puntos como en el ensayo.
Verificación de limpieza (Recobro de residuos de superficies)	Confirmar que el mismo material de hisopeo se utilice en el sitio transmisor y el sitio receptor	***	Usar muestras adicionadas con niveles de 3 veces la desviación estándar validada o dentro del $\pm 10\%$ de la especificación (lo que sea mayor)	Todas las muestras adicionadas con una cantidad superior a la de la especificación deben fallar. 90% de las muestras adicionadas con cantidades por debajo de la especificación deben pasar.	***
Pruebas microbiológicas (Cualitativas y pruebas de límite cuantitativa)	Ejecutar un protocolo de validación común en sitio. Usar los mismos materiales, técnicas y preparación de inóculo.	Validación en triplicado	Usar diferentes lotes para cada ejercicio de validación.	Cualitativo: demostrar recobro de microorganismos. Cuantitativo: niveles de recobro dentro de los límites de aceptación especificados en el protocolo.	***
Impurezas, productos de degradación, disolventes residuales	Confirmar los factores de respuesta para cálculos relativos al pico del activo. Confirmar límites de cuantificación en el sitio receptor. Comparar cromatogramas. Comparar	En cada sitio: 2 analistas x 3 lotes, en duplicado (triplicado si se hacen junto con el ensayo)	Diferentes días, diferentes instrumentos y columnas. Usar muestras de edad, homogeneidad, empaque y almacenamiento o similar. Usar muestras adicionadas si	(Para niveles bajos) Valores en el sitio receptor dentro de $\pm 25\%$ de los valores en el sitio transmisor o media en el sitio receptor dentro de $\pm 0.05\%$ la media en el sitio transmisor (5%).	(Para niveles moderadamente altos) Dos pruebas t de un extremo, (<i>TOST. Two-One Sided t Tests</i>) con diferencias inter-sitio $\leq 10\%$, 95% de confianza.

Prueba	Consideraciones para la transferencia	Réplicas de la prueba	Diseño	Criterio de aceptación directo	Criterio de aceptación estadísticamente derivado
	exactitud y precisión para experimentos de adición.		es necesario.		

Guía ISPE de buenas prácticas de transferencia.

La Sociedad Internacional de Ingeniería Farmacéutica cuenta con una guía de buenas prácticas de transferencia de tecnología. (International Society of Pharmaceutical Engineering, 2003). En esta guía se incluye un capítulo especial de transferencia de métodos analíticos y dentro de este capítulo hay una parte del texto que propone diseños experimentales y criterios de aceptación.

Para las pruebas de ensayo por CLAR o CG la guía propone incluir al menos el análisis de tres lotes por triplicado cada uno con dos analistas diferentes. Para comparar los resultados se sugiere utilizar la prueba TOST de Schuirmann con 95% de confianza y con diferencia máxima de 2%. Alternativamente sugiere hacer comparaciones directas de las medias y de la variabilidad. Algo importante que esta guía contiene es la indicación de que si el método analítico es aplicable a varias dosis de principio activo en la misma forma farmacéutica se puede utilizar bracketing y asumir que si el método funciona para la dosis más alta y la más baja funcionará para las dosis intermedias.

Para las pruebas de uniformidad de contenido sugiere utilizar también la prueba de equivalencia TOST de Schuirmann con 95% de confianza y diferencias de 3% o menores. La guía hace énfasis en la necesidad de comparar la varianza de los datos de ambos laboratorios por la importancia que tiene en el cálculo del valor de aceptación.

Para las pruebas de impurezas, degradantes y disolventes residuales indica que el límite de cuantificación (LOQ) debe ser confirmado en el sitio receptor. Para niveles altos de impurezas indica una prueba TOST de Schuirmann con diferencia de 10% o menor a 95% de confianza; mientras que para niveles bajos de

impurezas indica una diferencia de $\pm 25\%$ en diferencia relativa o $\pm 0.05\%$ en diferencia absoluta en los resultados de impurezas.

Para pruebas de disolución de liberación inmediata indica que la realización de una primera etapa de disolución con 6 unidades es suficiente; mientras que para productos de liberación prolongada indica un perfil de disolución con 12 unidades. La diferencia absoluta entre laboratorios debe de estar dentro de $\pm 5\%$. Para los perfiles sugiere utilizar un método estadístico de comparación como f_2 .

PROCESO DE TRANSFERENCIA ANALÍTICA

Protocolo de transferencia

El primer paso en toda transferencia es la elaboración del protocolo, en él se describirá el diseño experimental, el análisis, el tratamiento estadístico de los datos así como los criterios de aceptación. Para elaborarlo se deberán tener en cuenta la forma farmacéutica y las pruebas de control de calidad aplicables al producto.

Tipos de formas farmacéuticas: Es lógico pensar que las pruebas y criterios de aceptación durante una transferencia analítica dependerán de las pruebas de control de calidad del producto y estas a su vez, dependerán del tipo de forma farmacéutica y del(los) principio(s) activo(s) incluido(s).

Actualmente en nuestro país de acuerdo a la NOM-073-SSA1-2015 “Estabilidad de fármacos y medicamentos”, existen las siguientes formas farmacéuticas, se presentan agrupadas de la misma forma que en la Norma, ya que la clasificación que se hizo en la norma se encuentra en función de las pruebas de control de calidad aplicables a las formas farmacéuticas:

Sólidas:

- Tabletas y grageas.
- Polvo para reconstituir de uso oral.
- Polvo para reconstituir de uso parenteral.
- Polvo de uso tópico.
- Polvo para inhalación.

Semisólidas:

- Supositorio y óvulo.
- Gel, crema tópica o ungüento tópico.
- Gel, crema ótica o ungüento ótico u oftálmico.

Líquidas:

- Solución oral, tópica o nasal.
- Solución oftálmica, ótica o parenteral.
- Emulsión oral y tópica.
- Emulsión parenteral.
- Suspensión oral, tópica y nasal.
- Suspensión oftálmica y parenteral.

Otras:

- Aerosol para inhalación.
- Spray nasal: solución o suspensión.
- Aerosol tópico.
- Transdérmicos.
- Implantes de aplicación subcutánea, dispositivos vaginales e intrauterinos que liberan fármacos.

Tipos de pruebas de control de calidad: Las pruebas de control de calidad para los medicamentos deben asegurar la identidad, potencia, calidad y pureza del producto y a la vez demostrar la biodisponibilidad del principio activo. Por lo tanto las pruebas de laboratorio de control de calidad se pueden agrupar como se muestra en la Tabla 3.

Tabla 9. Tipos de pruebas de control de calidad de medicamentos

Cualidad del medicamento	Pruebas de control de calidad
Identidad	Apariencia física (color, olor, transparencia, etc.), identidad cromatográfica, identidad espectrofotométrica, identidad química.
Potencia	Ensayo, prueba de uniformidad de dosis.
Calidad	Ensayo de conservadores, esterilidad, pH, pérdida al secado, determinación de agua, dureza, resuspendibilidad, tamaño de partícula, pruebas de desempeño.
Pureza	Determinación de impurezas: productos de degradación, pirógenos o endotoxinas, disolventes residuales, impurezas elementales, conteos de microorganismos aerobios, hongos y levaduras, material particulado.
Biodisponibilidad del activo	Desintegración, disolución.

Fuente: (Ahuja & Scypinski, 2001)

Las pruebas de control de calidad de medicamentos también se pueden clasificar de acuerdo al tipo de resultado emitido en tres grandes grupos que se enlistan a continuación:

- Pruebas cuantitativas
 - Pruebas cualitativas
 - Pruebas semi-cuantitativas
- **Pruebas cuantitativas:** En el Glosario de Términos Analíticos del Grupo Regional Andaluz de la Sociedad Española de Química Analítica se define que “*un análisis cuantitativo permite obtener la cantidad o contenido de un analito o el nivel de un parámetro analítico, expresándolo como un valor numérico con las unidades adecuadas*”.

Un análisis químico cuantitativo es un proceso metrológico, ya que su objetivo es realizar la medida de una magnitud. (Cuadros, 2013).

Una definición más sencilla puede encontrarse en el libro Fundamentos de Química Analítica: “*el análisis cuantitativo indica la cantidad de cada sustancia en una muestra o la cantidad de especies o analitos en forma numérica*”. (Skoog, 2010).

En el contexto de la industria farmacéutica existen diversas pruebas de control de calidad que son de carácter cuantitativo, por ejemplo la determinación de ensayo o valoración, prueba de uniformidad de dosis, prueba de disolución.

En este caso la repetibilidad y la reproducibilidad de los resultados emitidos deben ser evaluadas mediante pruebas de estadística paramétrica ya que los resultados son numéricos.

- **Pruebas cualitativas:** El mismo Glosario mencionado en la definición anterior menciona que un análisis cualitativo es el que “*un sistema material se califica con base a una evidencia experimental relacionada con su composición o estructura química*” de acuerdo a el análisis cualitativo está generalmente

asociado a la resolución de problemas, tales como la presencia/ausencia de un determinado componente, comparación del valor de una magnitud analítica con un valor límite o umbral e identificación en base a una estructura química. (Cuadros, 2013).

Por su parte Skoog define un análisis cualitativo como *“aquel que establece la identidad química de las especies en la muestra”*. (Skoog, 2010).

La más sobresaliente de las pruebas cualitativas en el análisis farmacéutico es la identidad; sin embargo no es la única. En este caso los resultados simplemente siguen una lógica Booleana; se puede considerar que los materiales pasan o fallan una prueba.

- **Pruebas semi-cuantitativas:** En el contexto de la industria farmacéutica se puede considerar que existen pruebas semi-cuantitativas las cuales no son propiamente un proceso metrológico pero permiten afirmar que cierto parámetro analítico se encuentra dentro de determinado rango numérico pero sin especificar el valor exacto de dicho parámetro analítico.

Un ejemplo de este tipo de análisis son las pruebas límite aplicadas a las materias prima como: sulfatos, cloruros, metales pesados, arsénico, etc. En estos casos se puede afirmar que el contenido de la muestra del analito es menor a cierto límite con base en la observación de una precipitación o de una coloración menor a la que presenta una preparación estándar, empleada para hacer la comparación.

Para los fines de la presente revisión se puede considerar que este tipo de resultados tienen las mismas características que los resultados cualitativos en cuanto no es posible aplicarles algún tipo de prueba de comparación de estadística paramétrica por no tratarse de valores numéricos.

El objetivo o razón de realizar una prueba también es relevante durante una transferencia analítica, como se muestra a continuación:

Tabla 10. Objetivo de las pruebas cuantitativas de control de calidad

Tipo de prueba	Objetivo
Ensayo (Pureza, contenido de principio activo)	Sirve para saber si el producto contiene una cantidad aceptable de ingrediente activo por unidad de dosificación. Generalmente dentro de un rango establecido para asegurar seguridad y efectividad.
Prueba de uniformidad de dosis	Esta prueba es para saber si el ingrediente activo está uniformemente distribuido en las unidades de dosificación; de tal forma que la variabilidad de la dosis al administrar una unidad de dosificación sea baja.
Disolución	Esta prueba reservada para formas farmacéuticas sólidas es una forma muy importante de evaluar la biodisponibilidad del fármaco lote a lote.
Determinación de impurezas	Estas pruebas sirven para determinar si algún componente indeseable está por debajo de un límite pre establecido. Por ejemplo residuos de catalizadores (como paladio o platino), productos de degradación del fármaco, productos de reacciones parásitas, residuos de precursores o intermediarios, cloruros, sulfatos, arsénico, metales pesados, etc.

Fuente: (Ahuja & Scypinski, 2001)

Consideraciones para transferencia de métodos indicativos de estabilidad y de cuantificación de impurezas:

Un método indicativo de estabilidad, es un método analítico cuantitativo que tiene la capacidad de separar y cuantificar una molécula de interés (generalmente el principio activo del medicamento) de otras moléculas similares y de sus propios productos de degradación; se le llama indicativo de estabilidad porque puede utilizarse en un producto farmacéutico sometido a un estudio de estabilidad y será lo suficientemente sensible para poder saber inequívocamente cuando el producto se ha degradado por debajo de un límite aceptable o cuando los niveles de los productos de dicha degradación ya se encuentran por encima de límites aceptables. La Norma Oficial Mexicana para estabilidad de medicamentos (NOM-073-SSA1-2015) define en su numeral 4.1.22 al método indicativo de estabilidad como: *“al validado por el fabricante o por quien éste designe, que puede detectar cambios en el tiempo de las propiedades químicas o biológicas del fármaco o*

medicamento; son específicos para el contenido del fármaco, productos de degradación y otros compuestos de interés.”

Para realizar la validación analítica de este tipo de métodos, es necesario tomar algunas provisiones especiales para evaluar la especificidad del método; la guía armonizada ICH Q2 (R1) “Validation of Analytical Procedures: Methodology” hace mención especial de dos casos específicos:

- Casos en los cuales existen sustancias de referencia de las impurezas del activo. (Punto 1.2.1 de ICH Q2(R1)) En este caso para la evaluación de la especificidad del método se deben utilizar muestras adicionadas con dichas impurezas a niveles apropiados y demostrar que el valor del ensayo del activo permanece igual aún en presencia de dichas impurezas.
- Casos en los cuales no existen sustancias de referencia de las impurezas del activo. (Punto 1.2.1 de ICH Q2(R1)) En estos casos se debe someter una muestra a condiciones relevantes de estrés como luz, calor, humedad, hidrólisis ácida o básica y oxidación para luego comparar los valores de ensayo de la muestra estresada contra los de una muestra control. Es de utilidad demostrar que el pico cromatográfico es atribuible solo a un componente (por ejemplo mediante el uso de espectrometría de masas o un detector de arreglo de diodos). Este tipo de estudios se conocen también como estudios de degradación forzada.

Cuando existen sustancias de referencia disponibles de las impurezas presentes en el producto, se puede probar la linealidad del método y obtener los límites de detección y cuantificación. Normalmente el límite de detección corresponde a una relación señal a ruido de 3:1; es decir cuando la altura del pico cromatográfico de cierta impureza es tres veces mayor al ruido de la línea base del cromatograma. Mientras que el límite de cuantificación corresponde a una relación señal a ruido de 10:1. (Sengül, 2016). De acuerdo a la FDA, el límite de detección para métodos espectrofotométricos y cromatográficos se define como el nivel mínimo al cual un

compuesto puede ser detectado; el límite de cuantificación se define para el mismo tipo de métodos analíticos como el nivel mínimo al cual un compuesto puede ser cuantificado con exactitud y precisión. (Food and Drug Administration, 29 de agosto de 2014).

La especificidad de un método indicativo de estabilidad se refiere a la capacidad de un método analítico de producir una respuesta atribuible a un único compuesto de interés. La mejor forma de evaluar la especificidad de un método para impurezas es utilizar la técnica analítica de cromatografía de alta resolución con detector de arreglo de foto-diodos; la cual permite generar una gráfica tridimensional (Los ejes X, Y y Z de dicha gráfica serían tiempo, señal y longitud de onda respectivamente). Para interpretar los datos adquiridos se requiere un software especializado que calcula dos parámetros: el ángulo de pureza de pico y el umbral de pureza. El cálculo es complejo y se basa en algoritmos complejos que convierten la señal a vectores en un espacio multi-dimensional; si el ángulo de pureza de un pico es menor al umbral de pureza calculado se puede afirmar que el pico es puro y por lo tanto puede ser atribuido a un solo compuesto. Si por el contrario el ángulo de pureza es mayor al umbral de pureza, el pico es impuro y no puede ser atribuido a un único compuesto ya que existe coelución de dos o más compuestos, por lo tanto se puede concluir que la separación cromatográfica no es exitosa. (Huizing, y otros, 1995) , (Waters, 2002).

Para evaluar la pureza de un pico con un detector PDA se pueden preparar muestras adicionadas con impurezas o bien se pueden analizar muestras sometidas a estrés oxidante, térmico, ácido-base, etc. de acuerdo a lo que describe la guía ICH Q2.

La FDA hace énfasis especial en las provisiones especiales que se deben de tomar al transferir un método indicativo de estabilidad; en su guía para la industria "*Analytical Procedures and Methods Validation for Drugs and Biologics*" de julio de 2015 indica que en los casos en los cuales el procedimiento transferido sea también indicativo de estabilidad, se deben utilizar muestras sometidas a

degradación forzada (que corresponde a las condiciones de estrés indicadas por la guía ICH indicadas con anterioridad) o muestras con las impurezas relacionadas que sean pertinentes adicionadas para los análisis en ambos sitios. La resolución 899 de ANVISA también pide evaluar la especificidad de un método analítico que está siendo transferido de un laboratorio a otro.

En resumen cuando se transfiere un método indicativo de estabilidad se debe revisar la validación el método para saber si se trata del primer o del segundo caso que describe la guía ICH Q2 y definir en el protocolo de transferencia una prueba de muestras adicionadas o de muestras sometidas a degradación forzada respectivamente; esta prueba debe ser realizada ineludiblemente por el laboratorio receptor.

En la mayoría de los casos de métodos indicativos de estabilidad, se deberá hacer uso de la tecnología de detección de arreglo de foto diodos y de un software especializado para el cálculo de umbral y ángulo de pureza. Un ejemplo encontrado en la literatura de porcentajes recuperados con cromatografía líquida de alta resolución de fase reversa con detección PDA de fármaco en formas farmacéuticas sometidas a diversas condiciones de estrés es el estudio realizado por Kumar y otros en tabletas de rufinamida (fármaco antiepiléptico utilizado como tratamiento de convulsiones asociadas con el síndrome de Lennox-Gastaut). En este estudio de degradación forzada, se sometió una solución de 1mg/mL de rufinamida a condiciones de hidrólisis ácida (HCl 0.1 M), hidrólisis alcalina (NaOH 0.1M con reflujo de 30 minutos a 80°C), degradación oxidativa (H₂O₂ 3% con reflujo de 30 minutos a 80°C), degradación térmica (calentamiento a 80°C por 30 minutos) y degradación fotolítica (exposición por 4 horas a luz ultravioleta a 365 nm de longitud de onda). El porcentaje de degradación fue de 7.79% con condiciones ácidas, 2.84% en condiciones alcalinas, 5.63% en condiciones oxidantes, 0.04% con degradación térmica y 0.14% con degradación fotolítica. (Pavan-Kumar, Mathrusri-Annapurna, & Pavani, 2013) Estos resultados ponen de relevancia la importancia de llevar a cabo estudios de degradación forzada con todas las condiciones de estrés aplicadas a la muestra durante la validación del

método indicativo de estabilidad y asegurar que el método tiene la misma especificidad al ser transferido a otro laboratorio.

Al llevar a cabo un estudio de degradación forzada, existen dos preguntas, la primera: ¿Cómo someter al fármaco a cada una de las condiciones de estrés?; y la segunda: ¿Qué porcentaje de fármaco se debe degradar para conducir apropiadamente el estudio? En la literatura encontramos algunas respuestas a estas preguntas; primero podemos ver el artículo de Ngwa en donde enlista algunos de los parámetros más frecuentemente utilizados para cada una de las condiciones de estrés (Ngwa, Junio 2010):

Tabla 11. Condiciones generalmente empleadas para degradación forzada.

Tipo	Condición experimental	Condiciones de almacenamiento	Tiempos de muestreo
Hidrólisis ácida	HCl 0.1 M	40°C, 60°C	1, 3 y 5 días
Hidrólisis básica	NaOH 0.1 M	40°C, 60°C	1, 3 y 5 días
Oxidante	H ₂ O ₂ 3% AIBN (Azobisisobutironitrilo)	25°C, 40°C (para peróxido) 40°C, 60°C (para AIBN)	1, 3 y 5 días
Fotolítica	N/A	Temperatura ambiente	1, 3 y 5 días
Térmica	Cámara climática o estufa	60°C, 80°C	1, 3 y 5 días

La respuesta a la segunda pregunta es también difícil de encontrar, y debe ser evaluada en cada caso en particular por quien realiza el desarrollo y la validación del método analítico, para evitar que las condiciones de estrés sean muy suaves como para no degradar el fármaco y también para evitar que las condiciones sean excesivas y produzcan resultados aberrantes que no se verían normalmente en un estudio de estabilidad. En general la degradación debería ser de entre 5% al 20% del fármaco disponible, con un consenso de que 10% de fármaco degradado es un porcentaje óptimo para evaluar la especificidad del método analítico; y como ya se mencionó se debe mantener presente la posibilidad de que cierta condición no degrade el fármaco. (Blessy, Patel, Prajapati, & Agrawal, 2014).

Durante la validación del método se deben establecer las condiciones óptimas de degradación del fármaco, los tiempos de muestreo óptimos de exposición a las condiciones de estrés y también se deben descartar las condiciones de estrés que

no degraden el fármaco. Dichas condiciones de degradación deberán de ser utilizadas en la prueba de especificidad del protocolo de transferencia analítica.

Consideraciones relativas al diseño experimental:

El diseño experimental de toda transferencia analítica debe estar descrito a detalle en el protocolo previo de la misma.

La guía ICH Q2 dentro de la prueba de precisión considera la evaluación de repetibilidad, precisión intermedia y reproducibilidad. En la descripción de la prueba de reproducibilidad únicamente se aclara que se trata de un estudio inter-laboratorios.

Para la evaluación de la repetibilidad se establecen requisitos mínimos:

- Un mínimo de 9 determinaciones cubriendo el rango especificado por el método (por ejemplo 3 concentraciones/3 réplicas cada una).
- Un mínimo de 6 determinaciones al 100% de concentración de prueba.

Para la evaluación de la precisión intermedia se deben considerar las variaciones típicas: días, analistas, equipos, etc. La guía menciona que no es necesario evaluar estos efectos individualmente; en lugar de esto se recomienda el uso de una matriz de diseño experimental.

Un laboratorio receptor de una transferencia analítica cuenta con diversos equipos e instrumentos (varios: equipos HPLC, cromatógrafos de gases, disolutores, etc.) así como, con diversos analistas que cuentan diferentes habilidades entre sus características. Una transferencia analítica no tiene como objeto probar cada una de las posibles combinaciones de equipos, analistas, etc. su objetivo es probar que el uso de diferentes equipos o personal no tiene un efecto sobre la capacidad del laboratorio de llevar a cabo una determinación analítica.

Al probar la realización del análisis en días diferentes, utilizando diferentes equipos y analistas se puede demostrar que dichos factores no interfieren en la capacidad del laboratorio de obtener resultados equivalentes.

Los factores son aquellas variables independientes, entendidas como variables discretas en el contexto del diseño de experimentos, que pueden o no tener un efecto en el resultado del experimento (variable dependiente). Cada factor puede tener diferentes niveles, es decir los posibles valores de las variables discretas, normalmente cada valor puede adoptar dos niveles diferentes. Se les denomina corridas a cada uno de los experimentos que se deben realizar con los factores a determinados niveles para observar el efecto de estos factores en el resultado de dichos experimentos.

Para realizar un diseño multifactorial completo considerando dos equipos, dos analistas y dos días se deben realizar 8 (2^3) experimentos independientes. El 3 corresponde al número de factores considerados y 2 al número de posibles opciones para esos factores. Un diseño factorial completo para este experimento se vería de la siguiente manera:

Tabla 12. Diseño multifactorial completo

Día 1	Equipo 1	Equipo 2
Analista 1	Día 1, Analista 1, Equipo 1	Día 1, Analista 1, Equipo 2
Analista 2	Día 1, Analista 2, Equipo 1	Día 1, Analista 2, Equipo 2
Día 2	Equipo 1	Equipo 2
Analista 1	Día 2, Analista 1, Equipo 1	Día 2, Analista 1, Equipo 2
Analista 2	Día 2, Analista 2, Equipo 1	Día 2, Analista 2, Equipo 2

Sin embargo lo más común es tomar una matriz por ejemplo la de Plackett-Burman para llevar a cabo un diseño multifactorial incompleto (NIST, 2017), esta matriz es la más conocida en el diseño de experimentos y fue propuesta por R.L. Plackett y J.P. Burman en su trabajo publicado en 1946 en la revista Biometrika. El objetivo de estos investigadores era encontrar la forma de economizar en el diseño de experimentos para realizar la menor cantidad de corridas posible obteniendo la mayor cantidad de información posible en un enfoque opuesto al

diseño factorial completo. (Miller & Miller, 2010) (Analytical Methods Committee, 2013).

La matriz más básica que proponen está compuesta por cuatro corridas, incluye tres factores con dos niveles cada uno; de esta se puede tomar el diseño experimental para las primeras tres corridas. En ella el primer nivel de cada uno de los factores se simboliza con (+) y el segundo nivel de cada factor se simboliza con (-). La matriz más pequeña de Plackett Burman es la siguiente:

Tabla 13. Diseño experimental de Plackett Burman

	Factor 1	Factor 2	Factor 3
Corrida 1	(+)	(+)	(+)
Corrida 2	(+)	(-)	(-)
Corrida 3	(-)	(+)	(-)
Corrida 4	(-)	(-)	(+)

Las matrices Plackett-Burman son diferentes del propósito perseguido por una transferencia analítica, sin embargo se pueden utilizar para construir los diseños de cada corrida ya que consideran combinaciones que utilizadas adecuadamente pueden servir para probar que los diferentes niveles de cada factor no tienen efecto sobre el resultado del experimento que es lo que busca probar una transferencia analítica.

Suponiendo que se desea realizar un estudio involucrando a al menos dos analistas, con dos equipos en dos días diferentes y que se desean realizar solo tres corridas de tres réplicas cada una para cada dosis durante la transferencia analítica. Si utilizamos las cuatro primeras corridas de la matriz más sencilla de Plackett-Burman nuestro diseño experimental quedaría como sigue:

- Analista 1, Equipo 1, Día 1, 3 réplicas
- Analista 1, Equipo 2, Día 2, 3 réplicas
- Analista 2, Equipo 1, Día 2, 3 réplicas
- Analista 2, Equipo 2, Día 1, 3 réplicas

El resultado de este diseño experimental nos brindaría información suficiente para poder realizar la comparación estadística de los datos analíticos contra los datos obtenidos por el laboratorio de referencia.

La guía ISPE para Buenas Prácticas de Transferencia de Tecnología en el Capítulo 3 (International Society of Pharmaceutical Engineering, 2003) recomienda que por lo menos dos analistas en cada laboratorio, deban realizar el análisis por triplicado de tres lotes diferentes resultando en al menos 18 diferentes ejecuciones del método. Si se trata de múltiples dosis se recomienda el uso de *bracketing* (Uso de niveles extremos, (NOM-073-SSA1, 2015)). El Reporte No. 961 (World Health Organization, 2011) de la OMS recomienda emplear el mismo diseño experimental y *bracketing*. Ambos documentos declaran ser guías y que cada laboratorio que redacte un protocolo deberá establecer sus propias condiciones.

Si se compaginan el uso de una matriz como la de Plackett Burman con las recomendaciones que dan los documentos de ISPE y de la OMS se puede proponer un diseño experimental como el propuesto anteriormente aplicado a cada uno de los tres diferentes lotes. Debido a que cada uno de los lotes se puede considerar un producto de un ciclo de manufactura completamente independiente uno de otro se considerarán experimentos diferentes. Si existen diversas dosis se puede realizar uso del *bracketing*, es decir cuando se incluyen en el experimento solo muestras correspondientes a los extremos del rango de dosis disponibles. (Food and Drug Administration, Enero 2003).

Consideraciones relativas a la incertidumbre analítica:

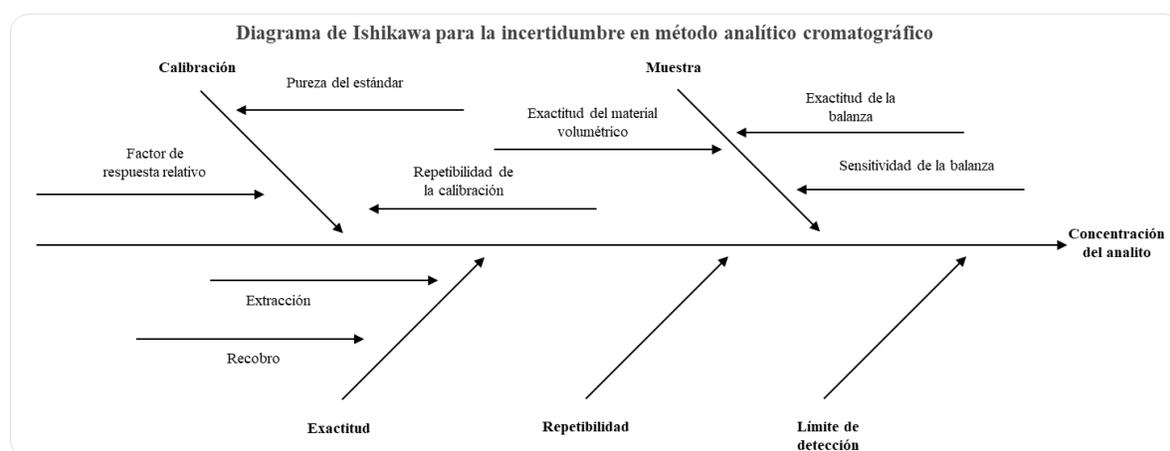
Es importante considerar la incertidumbre analítica al escribir un protocolo de transferencia analítica. Durante la validación se establece una evaluación de la exactitud de un método analítico mediante pruebas de recobro, (ICH, 2005) En la guía ICH Q2 (R1) 4.1.2 b) se recomienda realizar pruebas de recobro en muestras adicionadas con cantidades conocidas del analito y establecer criterios de aceptación para el porcentaje de recobro del analito.

La incertidumbre es definida por el JCGM (Comité Conjunto para Guías en Metrología por sus siglas en inglés) de la Oficina Internacional de Pesos y Medidas como “una medida del error posible en el valor estimado del mesurando provisto por el resultado de una medición”. (Joint Committee for Guides in Metrology, 2008).

Casi el 100% de los métodos analíticos actuales de control de calidad utilizan alguna de las técnicas de cromatografía líquida de alta resolución (CLAR). Tal como señalan Konieczka y Namiesnik, (Konieczka & Namiesnik, 2009) casi nunca se calcula la incertidumbre combinada derivada puramente del proceso cromatográfico y regularmente solo se hace durante la evaluación de la desviación estándar mediante la prueba de precisión intermedia.

Los autores indican cinco fuentes principales de incertidumbre en un típico análisis cromatográfico: la incertidumbre asociada con la cantidad de muestra utilizada, al recobro, a la repetibilidad, a la concentración del analito, proporcionan también un diagrama de Ishikawa con todas estas incertidumbres y como aportan a la incertidumbre general de la determinación. Este diagrama es específico para la determinación de PCB-28 (2,4,4'-Triclorofenilo)

Figura 2. Fuentes de incertidumbre en un método analítico cromatográfico



Fuente: (Konieczka & Namiesnik, 2009)

En el artículo de Lyrio-Traple y otros (Lyrio-Traple, Saviano, Francisco, & Lourenço, 2014) dedicado a la incertidumbre de medida farmacéutica se indica que en un estudio realizado por su grupo, aún no publicado, llegaron a la conclusión de que la exactitud, linealidad y precisión del método analítico contribuyen aproximadamente con el 70% de la incertidumbre total de los resultados de ensayo de linezólido por cromatografía líquida de alta resolución de fase reversa (RP-HPLC por sus siglas en inglés). En este artículo se realizó una estimación de la incertidumbre analítica de acuerdo al método Eurachem; propuesto este en la guía CG4 (EURACHEM/CITAC, 2012) que consiste en una racionalización de todas las fuentes de incertidumbre junto con el cálculo del aporte que cada una de ellas hace a la incertidumbre total; se realizó también una estimación de la incertidumbre analítica por el método de simulación Montecarlo el cual consiste en una simulación hecha con números generados aleatoriamente con computadoras como parte de un proceso estocástico que sigue determinada distribución de probabilidad (Landau & Binder, 2009). Ambas estimaciones de incertidumbre fueron muy similares arrojando un resultado de $95.13\% \pm 2.51\%$ de acuerdo al método EURACHEM y $95.14\% \pm 2.46\%$ con el método de simulación Montecarlo. También en este artículo (Okamoto, Traple, & Lourenço, 2012); mencionan que el enfoque de evaluación de la incertidumbre de dos grupos de resultados analíticos es igual de útil para evaluar equivalencia que una prueba TOST de Schuirmann. En conclusión, conocer la incertidumbre analítica del procedimiento analítico es fundamental por dos razones:

1. Nos dará la oportunidad de saber si los criterios de aceptación escogidos son apropiados. Dichos criterios no serían apropiados si la incertidumbre excediera los límites establecidos.
2. Nos puede ayudar a evaluar los resultados durante una transferencia analítica.

Preparación de la muestra

La preparación de la muestra es todo el tratamiento necesario para llevar el analito desde la forma farmacéutica hasta el estado en que se puede cuantificar, generalmente es una solución que se somete a análisis instrumental. Es un proceso de extracción en donde el analito se separa de otros componentes presentes en la forma farmacéutica y por lo tanto se requieren diversas técnicas como molienda, homogenización, agitación, etc. Si se desea tener éxito en una transferencia analítica hay que considerar los factores relativos a la preparación de la muestra que se resumen a continuación.

Todas las regulaciones coinciden en que es necesario definir en el protocolo de transferencia analítica las necesidades de entrenamiento del personal del laboratorio receptor en la metodología analítica. Es lógico pensar que para entrenar al personal en la metodología es necesario primero contar con la validación completa del método analítico y asignar al personal que estuvo involucrado en la validación como instructores en el entrenamiento.

El método debe de ser lo más preciso posible en la descripción de los pasos descritos; y también lo debe de ser el entrenamiento en el método que reciban los analistas involucrados. Se deben evitar instrucciones que den lugar a ambigüedades pues éstas pueden impactar en resultados deficientes; ya que cada analista de laboratorio puede hacer una interpretación diferente de una misma instrucción que no proporcione suficiente detalle. Como ejemplo de una instrucción falta de claridad Kirschbaum proporciona el siguiente ejemplo: “*Agite para disolver la tableta*”; las muestras preparadas utilizando un agitador mecánico promediaron 10.04 mg/Tableta con un RSD de 0.9% mientras que las muestras preparadas con un baño ultrasónico promediaron 9.40 mg/Tableta con un RSD de 5%. (Kirschbaum, 1989). En este ejemplo se puede observar que una diferencia en la interpretación de una instrucción tiene un efecto drástico en el resultado obtenido; ya que la diferencia representa 6.4% de la cantidad indicada en el marbete.

Medición (Análisis instrumental)

Las metodologías analíticas actuales generalmente involucran algún tipo de análisis instrumental y casi siempre ese tipo de análisis instrumental es cromatográfico. Incluyendo diversos tipos de cromatografía líquida de alta resolución o cromatografía de gases.

Es fácil esquematizar de manera general las metodologías analíticas utilizadas en la industria farmacéutica:

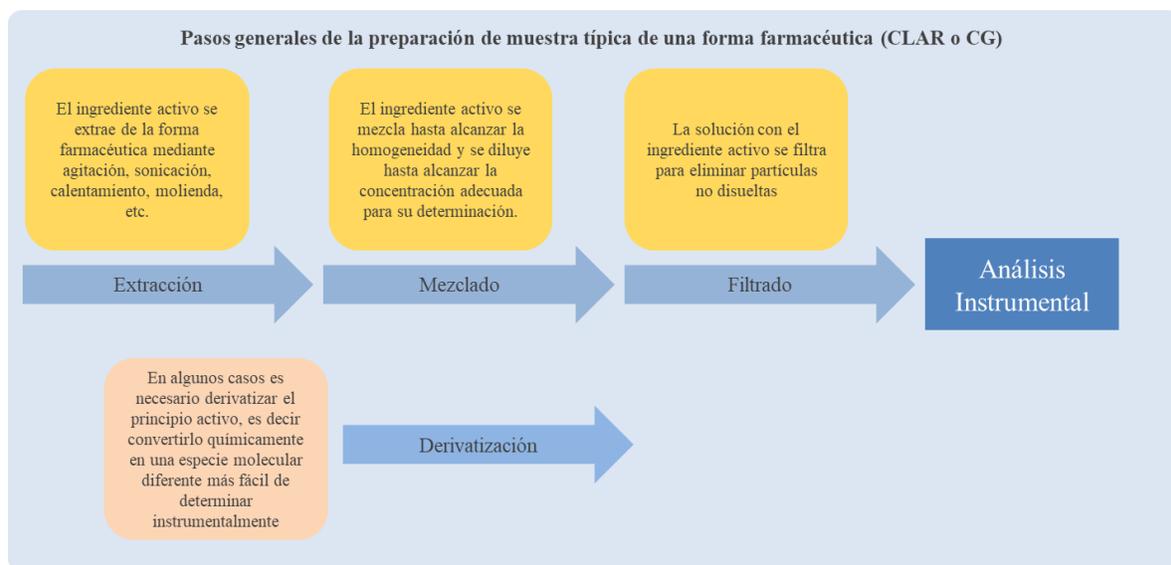


Figura 3. Preparación típica de una muestra farmacéutica. Fuente: (Nickerson, 2011)

Otro aspecto al cual se le debe prestar especial atención en los casos de CLAR o CG es a la selección de la columna cromatográfica; los compendios dividen los tipos de fase estacionarias según el tipo de cromatografía para el que estén destinados: líquidos o gases. De acuerdo a la USP las fases estacionarias para CLAR van desde L1 hasta L62; mientras que las fases estacionarias para CG van desde G1 hasta G49. Cada uno de estos tipos es químicamente diferente de todos los demás (USP 39a Edición, 2016), podrían existir fases no incluidas en el compendio.

Esto significa que cada tipo de fase estacionaria está definido en los compendios en lo general respecto al grupo funcional y al soporte que contienen, sin embargo existen una gran cantidad de compañías fabricantes de resinas y columnas cromatográficas que ofrecen productos con características muy diferentes unos de otros. Por ejemplo: Waters, YMC, Phenomenex, Nomura, Princeton, Supelco, Agilent, Restek, etc. (Majors & Przybyciel, Julio 2002) (Waters Corporation, 2017) En la validación del método podrían haberse considerado estudios de robustez para el uso de diferentes columnas, esta información es relevante al momento de realizar la transferencia analítica.

Las diferentes compañías de cromatografía realizan modificaciones químicas y físicas a sus resinas cromatográficas con la finalidad de ofrecer una ventaja competitiva sobre sus competidores. Por ejemplo *endcapping* o bloqueo covalente de los grupos silanoles libres (Majors & Przybyciel, Julio 2002), inclusión de un grupo polar o utilización de partículas de núcleo fundido (*fused core / core shells*) las cuales sirven para disminuir el diámetro de difusión que debe recorrer el analito y por lo tanto aumentar la eficiencia logrando mejores separaciones en menor tiempo. (Anderson, Betthod, Pino-Estévez, & Stalcup, 2015).

Además de todas estas modificaciones, la porosidad de las partículas, forma, distribución del tamaño, homogeneidad, etc. son factores que influyen en los resultados obtenidos con una columna cromatográfica. Debido a todas estas diferencias funcionales es posible obtener resultados completamente diferentes cuando se utilizan dos columnas diferentes aunque ambas se encuentren en la misma clasificación compendial.

Durante la validación del método se deben identificar todos los parámetros que pueden ser sujetos a cambios en la ejecución del método y deben ser validados para saber si el método es robusto cuando se aplican tales cambios. Todos los parámetros de robustez del método deben estar validados previo al inicio del entrenamiento y la ejecución del protocolo de transferencia. (Nickerson, 2011).

La referencia anteriormente citada (Kirschbaum, 1989) constituye una valiosa guía de aspectos generales de las metodologías analíticas que pueden convertirse en un problema si no se toman en cuenta: estabilizadores de los disolventes utilizados, pureza de reactivos, algoritmos de integración en cromatografía, etc.

Tratamiento de los datos

Poblaciones disponibles: Cuando hablamos de una transferencia analítica por estudio comparativo de un método analítico cuantitativo se toman como ciertas las siguientes afirmaciones:

El laboratorio emisor ha validado el método que va a transferir, dicha validación entre otros parámetros incluye la prueba de precisión intermedia. (ICH, 2005)

- El laboratorio receptor como parte de la ejecución del protocolo, analizará múltiples réplicas (n réplicas) de muestras de un lote previamente analizado por el laboratorio de desarrollo.
- El laboratorio emisor tiene perfectamente caracterizado este lote, y ha realizado análisis múltiples de muestras del lote. Cuenta con una media y una desviación estándar de los resultados obtenidos.

Existirán dos grupos de valores numéricos (poblaciones), uno perteneciente a cada laboratorio y cada uno con un tamaño, una media y una desviación estándar propios. Las pruebas estadísticas deberán ser seleccionadas en función de los datos con los que se cuenta. Podría ser necesario transferir el método a más de un laboratorio receptor, por lo cual sea necesario hacer un estudio que compare más de dos grupos de datos a la vez.

Pruebas estadísticas disponibles: Existen muchas pruebas estadísticas para comparar las medidas de tendencia central o las dispersiones de dos o más poblaciones. El detalle del cálculo de cada una de ellas se presenta en el Anexo 2, ya que serán empleadas más adelante.

Selección de las pruebas estadísticas: Para seleccionar una prueba estadística debemos tener en cuenta cual es el objetivo de la prueba analítica cuantitativa a comparar y la naturaleza de los datos analíticos que queremos comparar.

En los casos de **ensayo y determinación de impurezas**. Es importante determinar la tendencia central de una serie de determinaciones, pues las especificaciones miden el contenido de una molécula (analito) en la formulación. La prueba estadística utilizada para comparar medidas de tendencia central debe mostrar igualdad o equivalencia estadística.

La Prueba de **uniformidad de dosis**. Se requiere medir la dispersión de una serie de determinaciones del analito (10 en la primera etapa) y el cálculo del valor de aceptación "AV" está directamente relacionado a la desviación estándar. La prueba estadística que se aplicará en las pruebas de uniformidad de contenido debe comparar la dispersión.

En la Prueba de **disolución** es importante la medida de tendencia central y la medida de la dispersión solo es importante para que las determinaciones individuales cumplan con los criterios aplicables a cada unidad de dosificación. Las pruebas f1 y f2 son específicas para comparación de **perfiles de disolución**, sin embargo no todas las pruebas de disolución involucran muestreo a más de un tiempo y los criterios de aceptación para f1 y para f2 fueron desarrollados y recomendados para **pruebas de bioequivalencia**. Una prueba TOST de Schuirmann con límites de $\theta=10.0\%$ aplicada en cada punto de muestreo para una comparación de perfiles de disolución tiene resultados comparables a aquellos obtenidos con la prueba f2 de acuerdo a Lourenço (Lourenço, Ghisleni, Yamamoto, & Andreoli, 2013). El límite de 10.0% está establecido para pruebas de bioequivalencia; sin embargo puede ser ajustado a 3.0% como lo recomienda la OMS para estudios de transferencia analítica.

Existen algunos otros enfoques mucho más complejos para evaluar la similitud entre dos perfiles de disolución. Mi-Chia Ma en su artículo de 1999 (Ma, Lin, & Liu, 1999) que versa sobre evaluación estadística de la similitud de perfiles de disolución, sostiene que la comparación de dos perfiles de disolución hecha con 24 tabletas puede llevar a errores debido al muestreo y propone como un análisis alternativo el cálculo de la distancia de Mahalanobis. (Ma, Lin, & Liu, 1999). Sin

embargo este enfoque propuesto da por sentado que la razón por la cual se comparan dos perfiles de disolución es para la evaluación de bioequivalencia; como no es el caso no se profundizará en el análisis de la distancia de Mahalonobis pues aunque ofrece un mayor poder estadístico es complicado en la práctica.

En la siguiente tabla se presenta una propuesta de que pruebas estadísticas se podrían aplicar para cada una de las pruebas de control de calidad existentes, con base en el objetivo final de estas pruebas:

Tabla 14. Posibles pruebas estadísticas para estudio de transferencia analítica

Prueba analítica	Posibles pruebas estadísticas de comparación
Ensayo Impurezas	<ul style="list-style-type: none"> ▪ ANOVA/ANADEVA de una vía para demostrar igualdad (Para más de dos laboratorios) ▪ Prueba t de dos muestras para demostrar igualdad ▪ Prueba TOST de Schuirmann para demostrar equivalencia (Se puede utilizar la prueba TOST por pares si en el protocolo se utiliza más de un lote en el análisis) ▪ Análisis de regresión lineal, para evaluar linealidad y para límites de detección y cuantificación.
Disolución	<ul style="list-style-type: none"> ▪ ANOVA/ANADEVA de una vía para demostrar igualdad (Para más de dos laboratorios) ▪ Prueba t de dos muestras para demostrar igualdad ▪ Prueba TOST de Schuirmann para demostrar equivalencia ▪ Para perfiles de disolución se puede aplicar el cálculo de f1 o f2
Uniformidad de contenido	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Cualquier prueba de igualdad o equivalencia de las enlistadas para el ensayo. ▪ Prueba de Levene para comparación de varianzas. Ya que el criterio de aceptación de esta prueba tiene que ver con la dispersión encontrada.

De estas pruebas existen algunas que son más adecuadas que otras, ya que tienen características que hacen más favorable su aplicación. La principal diferencia entre ellas es la diferencia entre demostrar igualdad estadística y equivalencia estadística.

La diferencia entre igualdad estadística y equivalencia estadística radica en que las pruebas de igualdad buscan demostrar que la probabilidad de que las medias de dos grupos sean iguales es alta; mientras que las pruebas de equivalencia buscan demostrar una alta probabilidad de que la diferencia entre las medias de

dos grupos es menor que un límite pre establecido que tiene un significado práctico.

En ambas pruebas el estadístico de prueba y/o el intervalo de confianza están en función de la desviación estándar de las poblaciones que están siendo comparadas. Por lo tanto, podría decirse que cualquier factor que incremente o disminuya la desviación en los resultados analíticos obtenidos durante la ejecución del protocolo tendría un impacto directo en el resultado de la prueba estadística.

Para poder obtener conclusiones prácticas acerca de la diferencia en estudios de transferencia analítica entre las pruebas de igualdad y las pruebas de equivalencia, debemos comparar una de cada grupo que siga la misma distribución de probabilidad. Las pruebas que son más factibles de comparar son la prueba t de dos muestras y la prueba TOST de Schuirmann ya que ambas siguen la distribución t de probabilidad.

Para comenzar podemos analizar la fórmula para calcular el estadístico en la prueba t para dos muestras:

$$T = \frac{\bar{x} - \bar{y}}{\sqrt{\left(\frac{S_x^2}{n_x} + \frac{S_y^2}{n_y}\right)}}$$

n_x =tamaño del grupo x

n_y =tamaño del grupo y

\bar{x} =promedio del grupo x

\bar{y} =promedio del grupo y

S_x^2 =varianza del grupo x

Un valor de T más bajo indica mayores probabilidades de que las medias sean iguales; el término indicado en el numerador es la diferencia aritmética entre ambas medias y lógicamente entre más elevada sea esta diferencia más elevada será el valor del estadístico T y más probable será rechazar la hipótesis nula (ambas medias son iguales). Mientras que el caso de la varianza de los grupos es más interesante porque no es intuitivo como en el caso de la diferencia aritmética.

La varianza (cuadrado de la desviación estándar) de los grupos es la medida de la dispersión involucrada en esta fórmula; la varianza del primer grupo se localiza en el denominador y está dividida entre el tamaño de la muestra y luego sumada a la

varianza del otro grupo dividida también entre el tamaño de esa muestra. La raíz cuadrada de dicha suma es inversamente proporcional al estadístico de prueba, es decir que entre más grande sea el valor del denominador más probabilidades habrá de aceptar la hipótesis nula de que las medias son iguales.

Una mayor dispersión en cualquiera de los dos grupos, o bien en ambos, aumenta las posibilidades de declarar que la hipótesis nula es aceptable; sin embargo desde un punto de vista analítico una mayor dispersión en los resultados no es un buen escenario. Una alta dispersión de los resultados analíticos indica una pobre repetibilidad en el método y está directamente ligada a la incertidumbre del resultado.

La prueba TOST de Schuirmann que fue diseñada primordialmente para evaluar bioequivalencia (Schuirmann, 1987); pero tiene muchas otras aplicaciones dentro de las ciencias farmacéuticas. La forma más práctica y gráfica de aplicar esta prueba es mediante el cálculo del intervalo de confianza de la diferencia entre las medias de los dos grupos; una vez hecho esto el intervalo de confianza es comparado con el intervalo $[-\theta, \theta]$ en donde el valor de θ es una diferencia máxima aceptable entre las medias desde un punto de vista práctico y seleccionado por el usuario de la prueba con base en lo que desee demostrar.

La fórmula para el cálculo del intervalo de confianza es la siguiente:

$$(\bar{x} - \bar{y}) \pm t_{(0.10, n_x + n_y - 2)} * S_p * \sqrt{\left(\frac{1}{n_x} + \frac{1}{n_y}\right)}$$

En ella la desviación estándar de ambas muestras está combinada en el término S_p y este término es directamente proporcional a la desviación estándar de cada uno de los grupos. Como es un intervalo de confianza que debe de estar

contenido en $[-\theta, \theta]$, importa su amplitud ya que si el intervalo calculado con la fórmula de arriba excede cualquiera de los límites establecidos o los dos de ellos no se podrá demostrar equivalencia.

Entre más amplio sea el intervalo de confianza de la diferencia, menos probabilidades de demostrar equivalencia existen. Por lo tanto en esta prueba una mayor dispersión de los resultados analíticos es penalizada con menores posibilidades de demostrar equivalencia; esta condición está más acorde al punto de vista analítico que busca la menor dispersión entre determinaciones experimentales.

En el artículo "*Analytical Method Equivalency An Acceptable Analytical Practice*" (Chambers, y otros, Septiembre 2005), Chambers et al exponen la problemática de la prueba t de dos muestras en comparación con la prueba TOST de Schuirmann mediante el siguiente ejemplo, que se muestra a continuación para demostrar los potenciales problemas con una prueba t para dos muestras, en la comparación de un método de ensayo manual contra uno automático y la comparación de dos métodos de ensayo; en este ejemplo los resultados analíticos son los que se muestran a continuación (Este ejemplo no ilustra una transferencia analítica sino un estudio de la viabilidad de cambiar un método analítico por otro, sin embargo, lo que es relevante para el objetivo de la monografía es evaluar el comportamiento de los datos al tratar con dispersiones diferentes).

Al evaluar los datos de manera empírica podríamos decir que las medias del método automático y del método manual de ensayo están realmente muy cerca y la dispersión de los datos es baja aún sin hacer cálculo alguno. En contraste la dispersión de las determinaciones de disolución se puede ver como mayor y se puede ver también que las medias están distantes.

Tabla 15. Ejemplo de comparaciones con la prueba t para dos muestras (Chambers, y otros, Septiembre 2005)

No.	Ensayo		Prueba de disolución	
	Manual	Automático	Método 1	Método 2
1	100.0	99.8	82	77
2	99.9	99.8	92	78
3	100.0	99.7	87	87
4	99.9	99.7	85	79
5	99.9	99.8	85	89
6	100.1	99.8	86	80
μ	100.0	99.8	86	82
σ	0.08	0.05	3.31	5.05

Los resultados de ambos métodos de ensayo tienen buena exactitud y buena precisión, las medias obtenidas con el método manual y automático son cercanas (100.0% y 99.8%) mientras que la desviación estándar en ambos grupos es menor a 0.1%; sin embargo al aplicar una prueba t para dos muestras se obtiene un valor de $t = 5.071$ que es mayor a $t_{1-\alpha/2, 10} = 2.228$; la consecuencia de este valor del estadístico de prueba es el rechazo de la hipótesis nula y la aceptación de la hipótesis alterna de desigualdad de las medias. El estudio podría concluir erróneamente que los métodos manual y automático no son equivalentes.

Mientras tanto en la comparación de los resultados del método 1 y 2 de disolución, se obtuvieron medias claramente distantes (86% y 82%) y desviaciones altas (3% y 5% respectivamente). Sin necesidad de aplicar ningún método estadístico de comparación podríamos concluir que estos resultados son pobres y difícilmente podrían considerarse comparables aun aplicando un método simple de diferencia aritmética máxima. Al aplicar la prueba t para dos muestras se obtiene un valor $t=1.826$ que es menor a $t_{1-\alpha/2, 10}=2.228$; lo cual nos lleva a la aceptación de la hipótesis nula de igualdad de las medias. El estudio de intercambiabilidad de métodos podría concluir que los métodos 1 y 2 son equivalentes a pesar de la pobre precisión del método 2. En este ejemplo en el cual los autores nos muestran una comparación de métodos analíticos, se puede observar claramente la razón

por la cual la prueba t de dos muestras no es el enfoque más apropiado para usar durante un estudio de transferencia analítica.

En el caso de la prueba de uniformidad de dosis por uniformidad de contenido, normalmente el laboratorio de control de calidad utiliza el mismo método analítico que el que use para el ensayo. Sin embargo aunque el procedimiento analítico sea el mismo, el resultado es de diferente naturaleza que el resultado del ensayo pues se va a evaluar la dispersión del contenido de ingrediente activo en el lote.

Esta prueba está estructurada de tal forma que se analizan diez unidades de dosificación y se calcula el promedio y la desviación estándar del contenido de ingrediente activo en cada una de ellas. Estos datos junto con los límites de la especificación sirven para el cálculo del valor de aceptación AV (*Acceptance value*, por su siglas en inglés). Existen varias formas de calcular el AV, de acuerdo a lo que se muestra en la siguiente tabla:

Tabla 16. Cálculo del valor de aceptación de acuerdo al Capítulo General <905>

Cálculo del valor de aceptación													
$AV = M - \bar{x} + ks$													
\bar{x} = promedio s =desviación estándar	k =constantes de aceptabilidad Tiene un valor de 2.4 para 10 unidades de dosificación (Etapa o stage 1) y de 2.0 para 30 unidades de dosificación (Etapa o stage 2)												
Cálculo del valor T (<i>target</i>): $T = \frac{LSE + LIE}{2}$ Si las especificaciones no están expresadas en porcentaje, se deberá expresar en porcentaje de la cantidad indicada en el marbete.	<p style="text-align: center;">Caso 1 (T≤101.5%)</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="text-align: center;">$98.5\% \leq \bar{x} \leq 101.5\%$</td> <td style="text-align: center;">$AV = ks$</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">$\bar{x} < 98.5\%$</td> <td style="text-align: center;">$AV = 98.5 - \bar{x} + ks$</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">$\bar{x} > 101.5\%$</td> <td style="text-align: center;">$AV = \bar{x} - 101.5 + ks$</td> </tr> </table> <p style="text-align: center;">Caso 2 (T>101.5%)</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="text-align: center;">$98.5\% \leq \bar{x} \leq T$</td> <td style="text-align: center;">$AV = ks$</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">$\bar{x} < 98.5\%$</td> <td style="text-align: center;">$AV = 98.5 - \bar{x} + ks$</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">$\bar{x} > 101.5\%$</td> <td style="text-align: center;">$AV = \bar{x} - T + ks$</td> </tr> </table>	$98.5\% \leq \bar{x} \leq 101.5\%$	$AV = ks$	$\bar{x} < 98.5\%$	$AV = 98.5 - \bar{x} + ks$	$\bar{x} > 101.5\%$	$AV = \bar{x} - 101.5 + ks$	$98.5\% \leq \bar{x} \leq T$	$AV = ks$	$\bar{x} < 98.5\%$	$AV = 98.5 - \bar{x} + ks$	$\bar{x} > 101.5\%$	$AV = \bar{x} - T + ks$
$98.5\% \leq \bar{x} \leq 101.5\%$	$AV = ks$												
$\bar{x} < 98.5\%$	$AV = 98.5 - \bar{x} + ks$												
$\bar{x} > 101.5\%$	$AV = \bar{x} - 101.5 + ks$												
$98.5\% \leq \bar{x} \leq T$	$AV = ks$												
$\bar{x} < 98.5\%$	$AV = 98.5 - \bar{x} + ks$												
$\bar{x} > 101.5\%$	$AV = \bar{x} - T + ks$												
Fuente: (USP 39a Edición, 2016) Capítulo General <905>													

El valor de aceptación calculado (AV) debe ser menor a 15.0 para demostrar que el ingrediente activo está uniformemente distribuido a través del lote. En cada uno de los seis casos anteriores, correspondientes a diferentes escenarios de cálculo del AV aparece el término ks; es decir las seis ecuaciones mostradas arriba están en función de la desviación estándar y no hay excepciones a esta regla.

Al aplicar el mismo método analítico a diez diferentes unidades de dosificación, se obtendrá una dispersión que será el resultado de la suma de dos factores: la dispersión del contenido que es la que realmente nos interesa evaluar (σ_{Lote}) y la dispersión inherente al método analítico que está ligada a la incertidumbre analítica y la precisión del método ($\sigma_{Analítica}$). Por lo tanto la desviación estándar se podría expresar de la siguiente forma:

$$\sigma_{UC} = \sigma_{Lote} + \sigma_{Analítica}$$

En un artículo de 2002 de Anglov, dedicado a la creación de un presupuesto de incertidumbre para un ensayo farmacéutico por CLAR de fase reversa, los autores indican la homogeneidad del lote manufacturado como término que se suma al contenido de activo encontrado por el laboratorio de control de calidad. Obviamente este factor tiene una variabilidad que depende de la homogeneidad del lote. (Anglov, Byrialsen, Carstensen, Christensen, & Stjernholm, 2003)

Un laboratorio de control de calidad que quiera aplicar la prueba de uniformidad de dosis a un lote de producto desearía tener la mínima dispersión inherente al método analítico, idealmente esta dispersión analítica debería ser lo más cercana a cero. Dado que el valor AV está en función directamente proporcional de la desviación estándar, la calidad del resultado dependerá directamente de la capacidad del método analítico y del laboratorio de control de calidad de mantener el segundo término de la suma lo más bajo posible.

Para transferir un método analítico para la prueba de uniformidad de dosis, el laboratorio de desarrollo debe tener una idea clara del valor de la dispersión inherente al método ($\sigma_{Analítica}$) es decir debe tener una aproximación del valor de la incertidumbre analítica del método y de su precisión. Durante la transferencia analítica se debe probar que el laboratorio receptor es capaz de obtener un valor estadísticamente igual de desviación estándar; razón por la cual la prueba más adecuada es la prueba de Levene. De esta igualdad estadística depende la capacidad del laboratorio de tomar las decisiones de cumplimiento correctas.

Selección de los criterios de aceptación: El éxito de la prueba TOST de Schuirmann depende completamente de la selección del valor de θ , con el cual se construye el intervalo de equivalencia. El Reporte Técnico No. 961 de la OMS propone algunos valores para θ : [-2%,2%] para pruebas de ensayo, [-3%,3%] de uniformidad de dosis, [-10%,10%] para impurezas en niveles relativamente altos.

Estos valores fijos proporcionados por el Reporte Técnico No. 961 sirven como una primera aproximación, sin embargo, existen otras formas posibles de encontrar límites de significado práctico que pueden ser utilizados en una transferencia analítica.

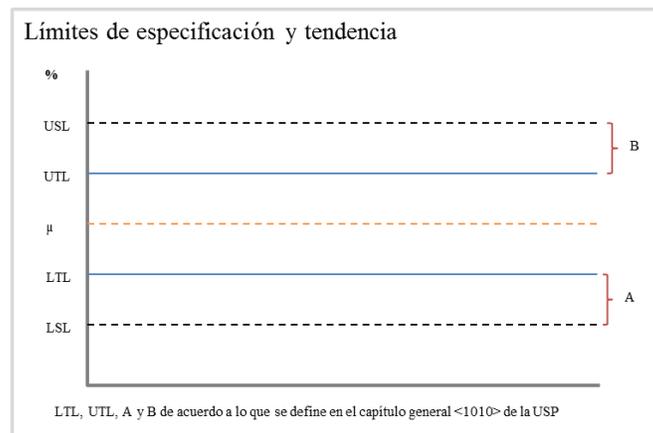
El valor δ : En el capítulo <1010> Datos Analíticos (USP 39a Edición, 2016), se propone el cálculo de máximas diferencias aceptables entre dos procedimientos analíticos. Esta máxima diferencia aceptable se denomina con la letra delta minúscula (δ); y corresponde a la mínima de las distancias entre el límite superior de tendencia y el límite superior de especificación y el límite inferior de tendencia y el límite inferior de especificación. El cálculo de la máxima diferencia aceptable (δ) se realiza de la siguiente manera:

Tabla 17. Cálculo de la máxima diferencia aceptable de acuerdo a USP <1010>

Cálculo de los límites de tolerancia	
\bar{x} =Promedio k =factor de cobertura basado en el nivel de confianza y el porcentaje de población que se desea cubrir, se sugiere usar 95% de confianza para el 95% de la población s =desviación estándar	$UTL = \bar{x} + ks$ $LTL = \bar{x} - ks$ LTL= <i>Lower Tolerance Limit</i> , Límite Inferior de Tolerancia UTL= <i>Upper Tolerance Limit</i> , Límite Superior de Tolerancia
Cálculo de δ	
$\delta = \text{mínimo}(A, B)$ $A = LTL - LSL$ $B = USL - UTL$	LSL= <i>Lower Specification Limit</i> , Límite Inferior de especificación USL= <i>Upper Specification Limit</i> , Límite Superior de especificación.

Para calcular δ se requiere conocer bien la variabilidad del proceso y disponer de suficientes datos para poder hacer un buen cálculo, las tablas del factor de cobertura k están en función del tamaño de la muestra. Entre más grande sea el tamaño de la muestra, el valor de k será menor para cubrir el 95% de la población con 95% de confianza. Los parámetros A y B pueden ser representados gráficamente de la siguiente manera.

Figura 4. Límites de especificación, tendencia y máxima diferencia aceptable.



Fuente: (USP 39a Edición, 2016)

Si aplicamos este concepto a las transferencias de métodos analíticos en donde el promedio y la desviación estándar utilizados para el cálculo de δ correspondan a los datos históricos obtenidos por el laboratorio de desarrollo, podemos limitar la diferencia entre los resultados obtenidos por el laboratorio receptor a estar contenidos en el intervalo $[-\delta, \delta]$ mediante la prueba TOST.

Este enfoque asegura que la máxima diferencia que será permitida entre el promedio obtenido por el laboratorio de desarrollo y el laboratorio receptor está en función de la distancia mínima existente entre el intervalo $\mu \pm ks$ (Donde μ es el promedio, k el factor y s la desviación estándar) y los límites de especificación. Esto quiere decir que si el laboratorio obtuviera, por ejemplo, un resultado localizado justo en el límite $\mu - ks$ (asumiendo que en este ejemplo A, fuera menor que B) el laboratorio receptor obtendría un resultado cuando menos localizado en el Límite Inferior de Especificación.

Complementando el ejemplo anterior, si B fuera menor que A, y el laboratorio obtuviera un resultado ubicado en $\mu + k_s$ el laboratorio receptor obtendría un resultado cuando más en el Límite Superior de la Especificación.

La máxima diferencia aceptable es un parámetro que puede ser calculado cuando se dispone de suficiente información en el laboratorio de desarrollo, y dota al criterio de aceptación de la transferencia analítica de un significado basado en el riesgo y en el conocimiento histórico del proceso.

La prueba TOST considera un intervalo para la diferencia bidireccional y centrado en cero, se adapta al concepto de máxima diferencia aceptable, así puede probar que el valor de la diferencia absoluta entre laboratorios es menor a δ .

De no ser posible calcular δ por la razón de carecer de información histórica en el laboratorio de desarrollo; se puede adoptar para el límite de la prueba TOST de Schuirmann un límite fijo como 1.0% o 2.0% como lo recomienda la OMS o bien podría adoptarse una diferencia máxima aceptable (θ) dividiendo el ancho de la especificación entre algún número entero (5, 6, 7, etc.) calculado de la siguiente forma:

$$\theta = \frac{LSE - LIE}{n}$$

Dónde:

LSE es el límite superior de la especificación

LIE es el límite inferior de la especificación

n es un número entero diferente de 1

De esta forma la diferencia máxima aceptable es menor a una fracción del ancho de la especificación. Se sugiere que el número n determinado sea igual o mayor a 5, para que sea análogo al caso que se explica más adelante donde la diferencia máxima aceptable representa 1/5 del ancho de la especificación.

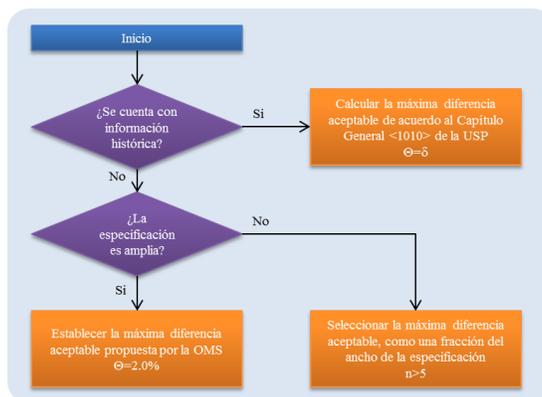
La adopción de un límite θ de 1.0% o 2.0% puede ser útil cuando no se cuenta con información histórica y se cuenta con una especificación amplia, por ejemplo 95.0%-105.0% o 90.0%-110.0%, lo cual regularmente ocurre en las especificaciones de ensayo de ingrediente activo en formas farmacéuticas. Si se adopta una diferencia máxima aceptable de 2.0% con la especificación de 95.0%-

105.0%, la diferencia máxima aceptable representa 1/5 del ancho de la especificación y 1/10 si la especificación es de 90.0%-110.0%.

Por otra parte la adopción de un límite que corresponda a una fracción del ancho de la especificación, puede ser apropiada cuando no se cuente con información histórica y no se cuente con una especificación amplia, por ejemplo 98.0%-102.0% o 99.0-101.0%, lo cual puede ocurrir en especificaciones de ensayo de ingrediente activo como materia prima o en ensayo de ingrediente activo en formas farmacéuticas de margen terapéutico reducido. En estos casos probar una diferencia máxima aceptable de 2.0 o 1.0 % no proporciona seguridad y confianza en los resultados, ya que si el laboratorio de desarrollo obtiene un resultado en el límite superior, el laboratorio receptor puede obtener un resultado en el límite inferior y seguir considerándolo aceptable; lo cual conlleva un gran riesgo de errores de tipo I y II en el proceso. Si por ejemplo se aplica un criterio de aceptación con una diferencia máxima aceptable de 2.0% a una especificación de 99.0%-101.0%, la diferencia máxima aceptable abarca 100% del ancho de la especificación.

En el siguiente diagrama de flujo se resumen cada uno de los casos que fueron discutidos en esta sección, y la forma propuesta de escoger un criterio de selección para aplicar una prueba TOST de Schuirmann con un límite que minimice la posibilidad de errores tipo 1 y tipo 2.

Figura 5. Selección propuesta de criterios de aceptación para la prueba TOST en transferencias analíticas:



DISCUSIÓN

Tomando como punto de partida el Reporte Técnico No. 961 de la Organización Mundial de la Salud y la guía ISPE, se hará una exploración desde un punto de vista estadístico de las herramientas estadísticas con las que se cuenta para realizar la transferencia analítica.

Ejemplo simulado

Para demostrar el modelo propuesto en la monografía y las diferencias que tiene respecto a otros métodos de comparación, se aplicará en dos ejemplos adoptando una perspectiva de mejor (laboratorio A) y peor caso (laboratorio B). El mejor caso corresponde a un laboratorio emisor con una baja dispersión de sus resultados mientras que el peor caso corresponde a un laboratorio emisor con una alta dispersión de los suyos.

Supongamos el siguiente caso para el ejemplo: una tableta con un único principio activo y dosis de 25 mg; sus especificaciones van desde 95.0% hasta 105.0% que se expresan como [23.75 mg/Tableta-26.25 mg/Tableta]. El procedimiento analítico indica tomar 10 tabletas, determinar el peso promedio, y moler hasta polvo fino en un mortero de porcelana. Del polvo resultante pesar una cantidad equivalente a 25 mg del principio activo y transferir cuantitativamente a un matraz volumétrico de 50.0 mL; extraer con metanol de alta pureza en un baño ultrasónico. Atemperar la mezcla, llevar a volumen con metanol. Tomar una alícuota de 10.0 mL y llevar a volumen en un matraz volumétrico de 50.0 mL con una mezcla de agua y metanol, que también funge como fase móvil. Filtrar la solución con una membrana adecuada. El análisis instrumental de la muestra se hace con un cromatógrafo de líquidos de alta resolución equipado con un detector ultravioleta, mediante la absorbancia del ingrediente activo en dicha región.

Mediante el uso de un paquete de software estadístico es posible simular poblaciones de datos que cumplan con parámetros pre-establecidos de tal forma que tengan un promedio y una desviación estándar definidas por el usuario. El

software utilizado fue Minitab® 17.1.0.0 (Minitab Inc., Pennsylvania State University).

En el ejemplo el laboratorio A le transferirá el método a los laboratorios: M, N, O y P; y el laboratorio B le transferirá su metodología a los laboratorios: W, X, Y y Z. Los resultados de cada uno de los laboratorios emisores y receptores se resume a continuación. Los resultados del laboratorio emisor A y los laboratorios con los que se compara son los siguientes:

Tabla 18. Resultados del laboratorio A

Réplica	Resultado [mg/Tab]	Réplica	Resultado [mg/Tab]
1	24.79197198	6	25.08378295
2	24.97523116	7	25.01093768
3	24.78586483	8	24.90855458
4	24.95178687	9	25.10181806
5	24.93898382	10	24.99693573
Promedio		24.95458677	
Desviación estándar		0.105958414	

Tabla 19. Resultados de los laboratorios M, N, O y P

Réplica	Laboratorio M	Laboratorio N	Laboratorio O	Laboratorio P
1	25.22099317	24.95166503	25.90327817	26.13763274
2	25.34388773	25.15518912	26.02009376	26.12301235
3	25.23866996	25.49887749	26.11968091	26.10982891
4	25.43806783	25.18832205	26.06138581	25.73853665
5	25.19434313	25.32436116	26.16452594	26.22132412
6	25.3349568	25.65327605	26.25046637	26.25269015
7	25.48851056	25.57659771	26.09479656	25.69194108
8	25.30931342	25.27931361	26.05801496	26.21549847
9	25.37886151	25.67212912	26.02928997	26.16334931
10	25.18845876	24.99069427	26.23604738	25.48599819
Promedio	25.31360629	25.32904256	26.09375798	26.0139812
Desviación estándar	0.103177254	0.262969945	0.104708905	0.270309076
Diferencia absoluta	0.36 mg/Tableta	0.37 mg/Tableta	1.14 mg/Tableta	1.06 mg/Tableta

Los resultados del laboratorio emisor B y de los laboratorios que se compararán contra el son los siguientes:

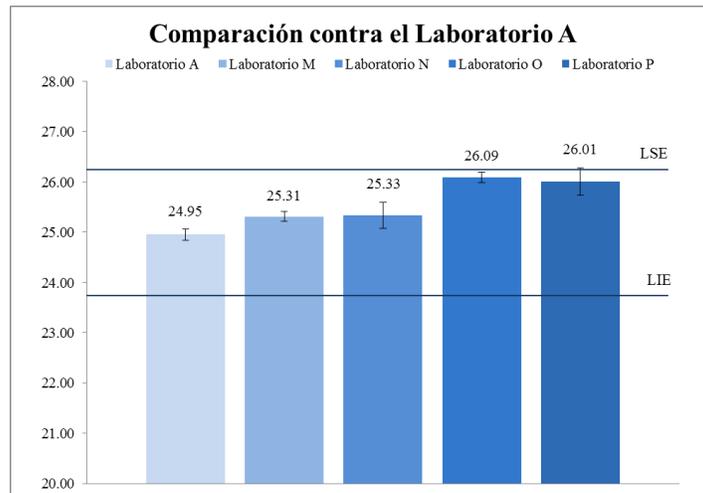
Tabla 20. Resultados del laboratorio B

Réplica	Resultado [mg/Tab]	Réplica	Resultado [mg/Tab]
1	24.87072562	6	25.29251764
2	25.35001187	7	24.92885913
3	24.92353073	8	24.64104514
4	25.42324209	9	24.77290274
5	24.94287187	10	24.75688533
Promedio		24.99025922	
Desviación estándar		0.270117355	

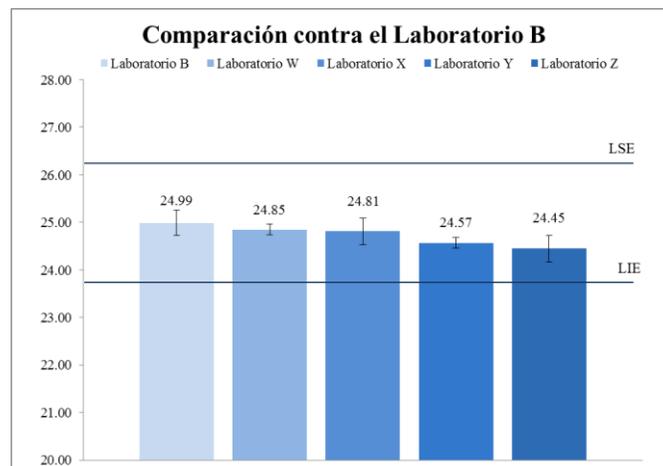
Tabla 21. Resultados de los laboratorios W, X, Y y Z

Réplica	Laboratorio W	Laboratorio X	Laboratorio Y	Laboratorio Z
1	24.6585733	25.0891498	24.48449439	24.93738546
2	24.88834857	24.61281674	24.48671797	24.6388323
3	24.79272305	24.75459012	24.50861996	24.22978977
4	24.87376681	25.13593929	24.80018678	24.62081686
5	24.93273592	24.79160234	24.45985645	24.419058
6	25.06546095	25.19211875	24.69065566	24.38504418
7	24.85092201	24.36078215	24.61329382	24.36306542
8	24.74625318	24.55792275	24.52517589	24.38054162
9	24.87221057	24.95955108	24.55285746	23.92045941
10	24.77647578	24.60217856	24.5745656	24.64189889
Promedio	24.84574701	24.80566516	24.5696424	24.45368919
Desviación estándar	0.111410878	0.279517982	0.106399117	0.275989984
Diferencia absoluta	0.14 mg/Tableta	0.18mg/Tableta	0.42 mg/Tableta	0.54 mg/Tableta

Gráfica 3. Resultados analíticos de los laboratorios de la primera compañía.



Gráfica 4. Resultados analíticos de los laboratorios de la segunda compañía.



En ambos gráficos presentados, es importante notar que la escala de los gráficos en el eje de las ordenadas ha sido aumentada y se muestra solo desde 20.00 hasta 27.00 mg/Tableta.

Pruebas y criterios de aceptación para comparación de medidas de tendencia central

Los resultados que se muestran a continuación, corresponden a la aplicación de algunas de las técnicas estadísticas presentadas en el Anexo 1 al modelo simulado que se explicó anteriormente,

Comparación con prueba t de dos muestras: Los valores obtenidos de la prueba t de dos muestras para las comparaciones contra el Laboratorio A son: 7.677 (Laboratorio M), 4.177 (Laboratorio N), 24.182 (Laboratorio O), 11.539 (Laboratorio P). La hipótesis nula de que la media de los laboratorios es igual a la media del Laboratorio A sería rechazada en todos los casos, porque el valor de $t_{1-0.025, 18}=2.101$. Se escogió un valor de $\alpha=0.05$, que corresponde a $\alpha/2 = 0.025$ para una prueba de dos colas; por otra parte los grados de libertad son 18 por que se comparan dos grupos de diez réplicas cada uno.

Si este fuera nuestro único recurso estadístico de comparación, se consideraría que la transferencia analítica del laboratorio a los cuatro laboratorios ha sido fallida.

Los valores obtenidos de la misma prueba para las comparaciones contra el Laboratorio B serían: 1.564 (Laboratorio W), 1.502 (Laboratorio X), 4.582 (Laboratorio Y) y 4.394 (Laboratorio Z). En este ejercicio de transferencia podríamos aceptar las dos primeras hipótesis nulas de que los resultados del Laboratorio B son iguales a los resultados de los laboratorios W y X.

En este caso la prueba t de dos muestras nos hubiera dado un éxito del 50% de las transferencias hechas por el Laboratorio B. Como se vio con anterioridad una prueba t de dos muestras no es el enfoque más adecuado para este estudio estadístico.

Sin embargo con diferencias tan pequeñas como 0.36 mg/Tableta entre el Laboratorio A y el Laboratorio M; surge la interrogante: ¿Una diferencia de 1.4% del marbete en el resultado de un laboratorio y otro, tiene el potencial de representar un riesgo a la salud del paciente?

Comparación con ANOVA/ANADEVA: Si suponemos que los Laboratorios A y B, están en posición de procesar los datos de todos sus laboratorios receptores al mismo tiempo, esta prueba estadística puede ser de utilidad.

Si aplicamos una prueba post-hoc de Tukey, podemos tener la ventaja de que también se hacen comparaciones entre laboratorios receptores al mismo tiempo que son comparados contra el laboratorio de desarrollo. La principal limitante de esta prueba es que tiene el mismo poder estadístico que la prueba t de dos muestras.

En estas pruebas el número total de tratamientos es 5 (1 laboratorio de desarrollo y 4 receptores), el número total de observaciones es de 50; por lo tanto el valor de $F_{J-1, I-J} = 1.40$; donde: J es el número de tratamientos e I es el número de observaciones. El estadístico de prueba calculado para el primer grupo (Laboratorios A, M, N, O y P) es de $F=69.25(F > F_{J-1, I-J})$; lo cual nos lleva a rechazar la hipótesis nula de que todas las medias de los tratamientos son iguales y a aceptar la hipótesis alterna de que al menos una es diferente. El estadístico de prueba calculado para el segundo grupo (Laboratorios B, W, X, Y y Z) es de $F=9.41(F > F_{J-1, I-J})$ lo cual nos lleva exactamente a la misma conclusión.

Comparación con prueba post-hoc de Tukey: Como primer paso de esta prueba se debe construir una tabla que cruce cada grupo con cada uno de los otros grupos; como segundo paso se debe de obtener la diferencia de las medias en cada cruce y como tercer paso se debe calcular el valor $T\alpha$; en cada comparación de dos grupos si la diferencia excede a $T\alpha$ dichos grupos son diferentes. El número de tratamientos es cinco, de la misma forma que en la prueba ANADEVVA y los grados de libertad del error son 45 (Número total de observaciones menos el número de tratamientos).

Las tablas resultantes son las siguientes:

Tabla 22. Prueba de Tukey, comparaciones contra el Laboratorio A

Diferencias	Laboratorio M	Laboratorio N	Laboratorio O	Laboratorio P
Laboratorio A	0.359	0.374	1.139	1.059
Laboratorio M		0.015	0.780	0.700
Laboratorio N			0.765	0.685
Laboratorio O				0.080

En el caso de los laboratorios que se comparan contra el Laboratorio A, el valor calculado $T\alpha=0.238$

Tabla 23. Prueba de Tukey, comparaciones contra el Laboratorio B

Diferencias	Laboratorio W	Laboratorio X	Laboratorio Y	Laboratorio Z
Laboratorio B	0.145	0.185	0.421	0.537
Laboratorio W		0.040	0.276	0.392
Laboratorio X			0.236	0.352
Laboratorio Y				0.116

Mientras que en el caso de los laboratorios que se comparan contra el Laboratorio B el valor $T\alpha=0.285$.

De la tabla de comparación superior, podemos obtener la conclusión de que las medias de los laboratorios M y N son estadísticamente iguales, así como, las medias de los laboratorios O y P. Sin embargo, ninguna es igual a la media del laboratorio de referencia. Esto corresponde exactamente a la misma conclusión que obtuvimos con una prueba t de dos muestras.

De la tabla de comparación inferior podemos concluir que las medias de los laboratorios B y Y, B y Z, W y Z, y Y y Z no son iguales. El resto de las combinaciones sí muestran igualdad estadística. Para fines de una transferencia analítica podemos decir: que los laboratorios Y y Z obtuvieron resultados estadísticamente iguales a los del laboratorio de desarrollo. De nuevo, esta conclusión corresponde exactamente a la que obtuvimos con una prueba t de dos muestras.

En conclusión: a menos de que se dispongan de datos para comparar a más de un laboratorio receptor con el laboratorio de referencia; aplicar la prueba ANADEVIA o ANOVA no representa ninguna ventaja sobre la prueba t de dos muestras, ya que nos lleva a las mismas conclusiones.

Comparación con TOST (2.0%): Si suponemos que los laboratorios de desarrollo no cuentan con historial del comportamiento del producto como para poder calcular una diferencia máxima aceptable (δ) de acuerdo a lo que indica el Capítulo General <1010> de la USP. Podríamos aplicar la prueba TOST de Schuirmann con el límite de $\theta = 2.0$ propuesto por el Reporte Técnico 961 de la

OMS. Obviamente en este caso hay que asumir que el límite de ± 2.0 está dado en porcentaje asumiendo un valor de 100%; en el caso de este producto el 100% corresponde a 25.00 mg/Tableta y el límite corresponde a $\theta = 0.50$ mg/Tableta.

Para calcular el intervalo de confianza de la diferencia entre dos medias, utilizaremos el valor de $t_{0.90, 18} = 1.330$; los grados de libertad en esta prueba son 18 por que se comparan dos grupos de diez observaciones cada uno, lo cual da un total de 20 observaciones al cual se les sustrae el número de grupos (2) para obtener los grados de libertad.

El intervalo de confianza de aceptación en la diferencia de la media es bidireccional y está centrado en el cero: [-0.50 mg/Tableta, 0.50 mg/Tableta]. El valor del intervalo de confianza de la diferencia entre la media de dos grupos está en función de la desviación estándar combinada.

Tabla 24. Límites de los intervalos de confianza en las comparaciones contra el Laboratorio A

TOST de Schuirmann	Laboratorio M	Laboratorio N	Laboratorio O	Laboratorio P
LIIC	-0.42122	-0.493697	-1.2018	-1.1815
LSIC	-0.29682	-0.255215	-1.0765	-0.9373

Tabla 25. Límites de los intervalos de confianza en las comparaciones contra el Laboratorio B

TOST de Schuirmann	Laboratorio W	Laboratorio X	Laboratorio Y	Laboratorio Z
LIIC	0.02162	0.02111	0.29851	0.37415
LSIC	0.2674	0.34808	0.54272	0.69899

Si el intervalo de confianza de la diferencia entre la media obtenida por un laboratorio receptor y la media obtenida por su laboratorio de referencia está contenido dentro del intervalo de confianza de aceptación, se rechazan las dos hipótesis nulas de la prueba TOST: $H_{01}: \mu_X - \mu_Y \leq \theta_L$ o $H_{02}: \mu_X - \mu_Y \geq \theta_U$

Las hipótesis nulas pueden describirse textualmente como: la diferencia en las medias de X y Y es menor o igual al límite inferior θ_L (-0.50 mg/Tableta) o la diferencia en las medias de X y Y es mayor o igual al límite superior θ_U (0.50 mg/Tableta).

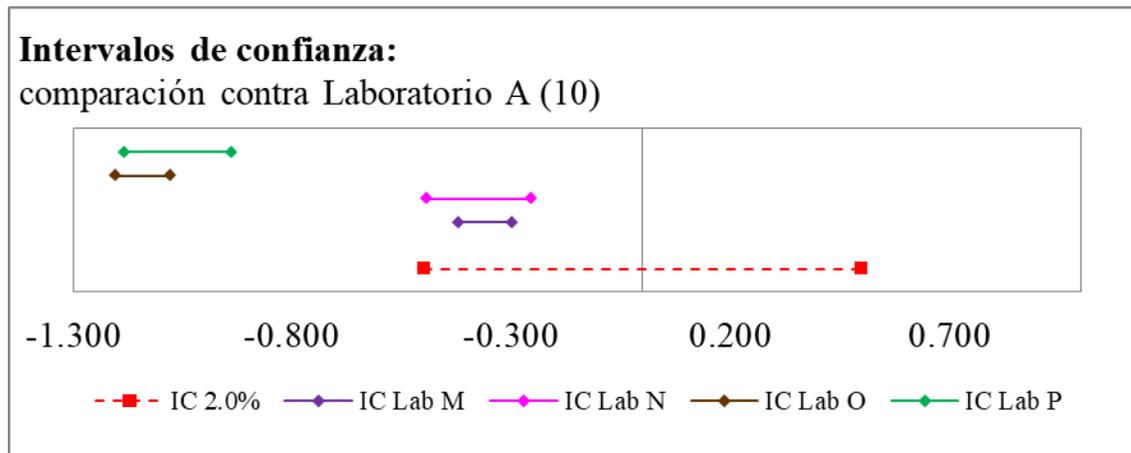
Dado lo anterior los laboratorios pueden declarar equivalencia estadística de sus resultados analíticos ya que se aceptan las hipótesis alternas:

$$H_{A1}: \mu_X - \mu_Y > \theta_L \text{ y}$$

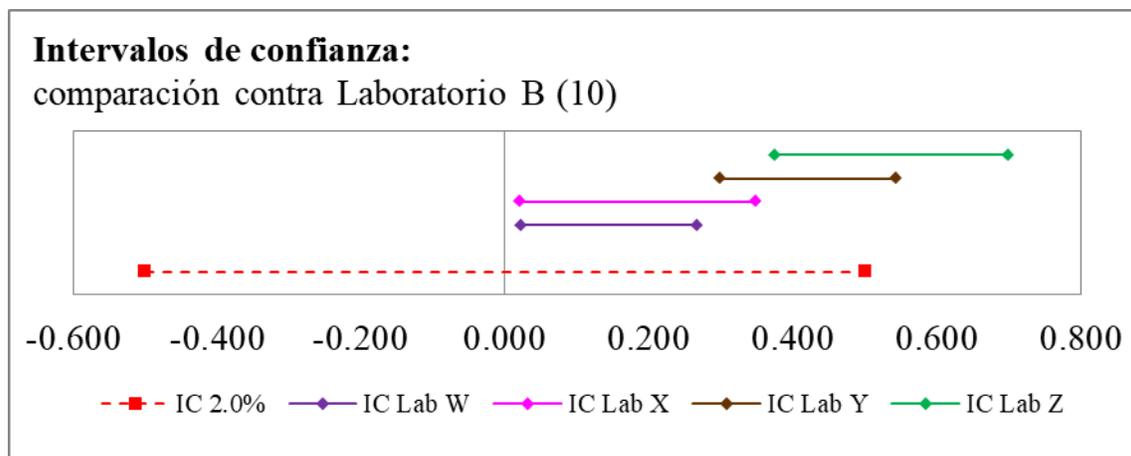
$$H_{A2}: \mu_X - \mu_Y < \theta_U$$

Las hipótesis alternas aceptadas se describirían textualmente de la siguiente manera: la diferencia en las medias de X y Y es mayor que el límite inferior θ_L (-0.50 mg/Tableta) y la diferencia en las medias de X y Y es menor al límite superior θ_U (0.50 mg/Tableta). Como se trata de una prueba de comparación de intervalos numéricos, una buena forma de visualizar el resultado de la misma es mediante gráficas:

Gráfica 5. TOST $\pm 2.0\%$ (0.50 mg/Tableta) comparaciones contra el Laboratorio A



Gráfica 6. TOST $\pm 2.0\%$ (0.50 mg/Tableta) comparaciones contra el Laboratorio B



De esta forma es muy fácil visualizar que los laboratorios M y N pueden establecer la equivalencia estadística de sus resultados respecto a los resultados del Laboratorio A. Mientras que en el caso de los laboratorios W y X pueden establecer la equivalencia estadística con respecto al Laboratorio B.

Puede observarse que en el caso de los laboratorios comparados contra el Laboratorio A, hay un cambio respecto a las conclusiones obtenidas de la prueba t de dos muestras y la prueba ANADEV A o ANOVA de una vía. En este caso y bajo este criterio propuesto por la OMS, la transferencia del Laboratorio A hacia los laboratorios M y N se consideraría exitosa. En el caso de las transferencias hechas por el Laboratorio B, podemos observar aquí la misma conclusión (Equivalencia de los laboratorios W y X) que obtuvimos con la prueba t de dos muestras o con ANADEV A o ANOVA de una vía.

Comparación con TOST (δ): Por otra parte, asumiendo que los laboratorios de desarrollo cuentan con la información suficiente para calcular diferencias máximas aceptables, para hacer este ejercicio supondremos que la media y la desviación estándar histórica son exactamente iguales a las que tienen los laboratorios para comparación analítica. Por lo tanto para el cálculo de la diferencia máxima aceptable de acuerdo al Capítulo General <1010> de la USP tendríamos lo siguiente:

Tabla 26. Cálculo de la diferencia máxima aceptable

	Laboratorio A	Laboratorio B
μ	24.95459	24.99026
σ	0.105958	0.270117
LTL	24.59655	24.07753
UTL	25.31262	25.90299
A	0.846553	0.327533
B	0.93738	0.347014
δ	0.846553	0.327533

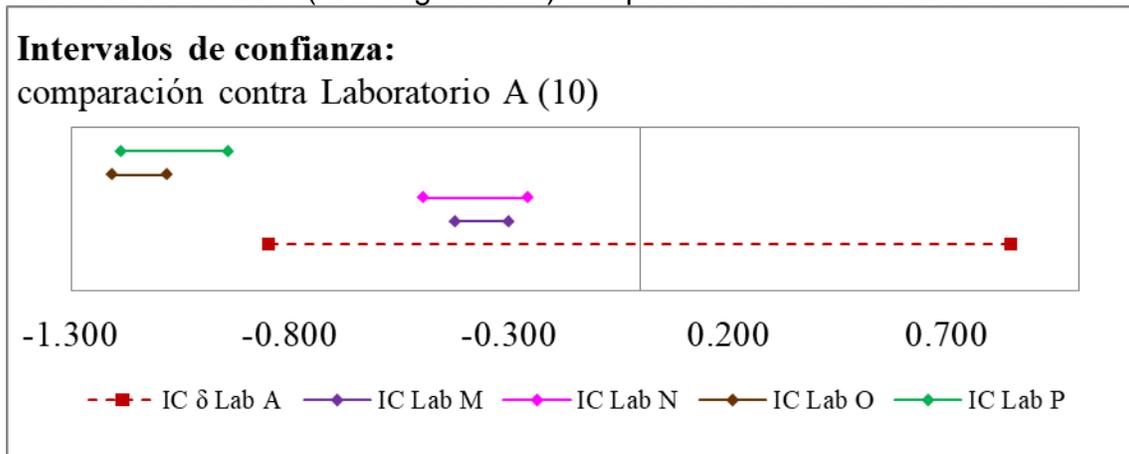
Del cálculo de δ , lo que salta a la vista en primera instancia es que la diferencia máxima aceptable es inversamente proporcional a la dispersión de los datos con

la cual es calculada. Este enfoque favorece la dispersión baja, entre menor dispersión exista en los resultados mayores diferencias son admisibles.

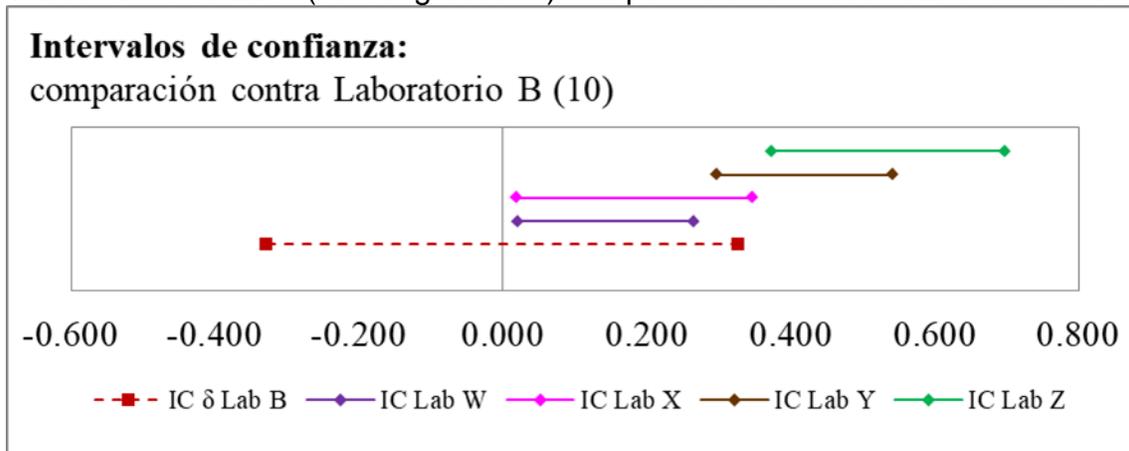
De acuerdo a este esquema de cálculo una diferencia de 0.85 es aceptable para el Laboratorio A y una de 0.33 para el Laboratorio B. Es importante destacar que el factor de cobertura utilizado en este caso es $K=3.379$ para una población de 10 datos. (Hines & Montgomery, 2013).

Si tomamos los valores de δ obtenidos y los igualamos a θ en una prueba TOST, para comparar a ambos laboratorios con cada uno de los laboratorios receptores que les corresponden obtenemos lo siguiente:

Gráfica 7. TOST $\pm\delta\%$ (0.50 mg/Tableta) comparaciones contra el Laboratorio A



Gráfica 8. TOST $\pm\delta\%$ (0.50 mg/Tableta) comparaciones contra el Laboratorio B



En las comparaciones contra el Laboratorio A, se calificarían las transferencias analíticas a los Laboratorios M y N como exitosas mientras que las transferencias analíticas a los Laboratorios O y P se considerarían fallidas pues están fuera del intervalo de confianza calculado.

En las comparaciones contra el Laboratorio B, se calificaría la transferencia al laboratorio W como la única exitosa, mientras que las transferencias analíticas al resto de los laboratorios serían calificadas como fallida bajo este esquema.

Comparando este esquema en el cual $\theta = \delta$ contra el esquema en el cual se utiliza 2.0% para este valor [0.50 mg/Tableta], podemos ver que en las comparaciones contra el Laboratorio A se calificaron como exitosas las mismas transferencias: al Laboratorio M y N; sin embargo existe la ligera diferencia de que con el valor fijo como diferencia aceptable la transferencia al Laboratorio N es marginalmente aceptable mientras que en este caso es aceptada por un amplio margen.

Comparando para el Laboratorio B es notable que la transferencia al Laboratorio X, que en el esquema anterior se considera aceptable, bajo este esquema no puede ser calificada como exitosa.

Es notable que en el esquema anterior los valores mínimo y máximo tomados como límites son fijos y los mismos para ambos Laboratorios: A y B. Como son valores predeterminados tomados del Reporte Técnico No. 961 de la OMS no necesariamente responden a las necesidades particulares de cada laboratorio. El presente esquema representa menor riesgo que la utilización de un valor fijo por que la diferencia máxima aceptable basada en el histórico del comportamiento ayuda a disminuir al mínimo los errores de Tipo I y Tipo II. La diferencia máxima aceptable para una desviación estándar de 0.11 es de 0.85 y para una desviación estándar de 0.27 es de 0.33; es notable que cuando la dispersión es más baja en el laboratorio emisor, se permite una mayor diferencia con el laboratorio receptor.

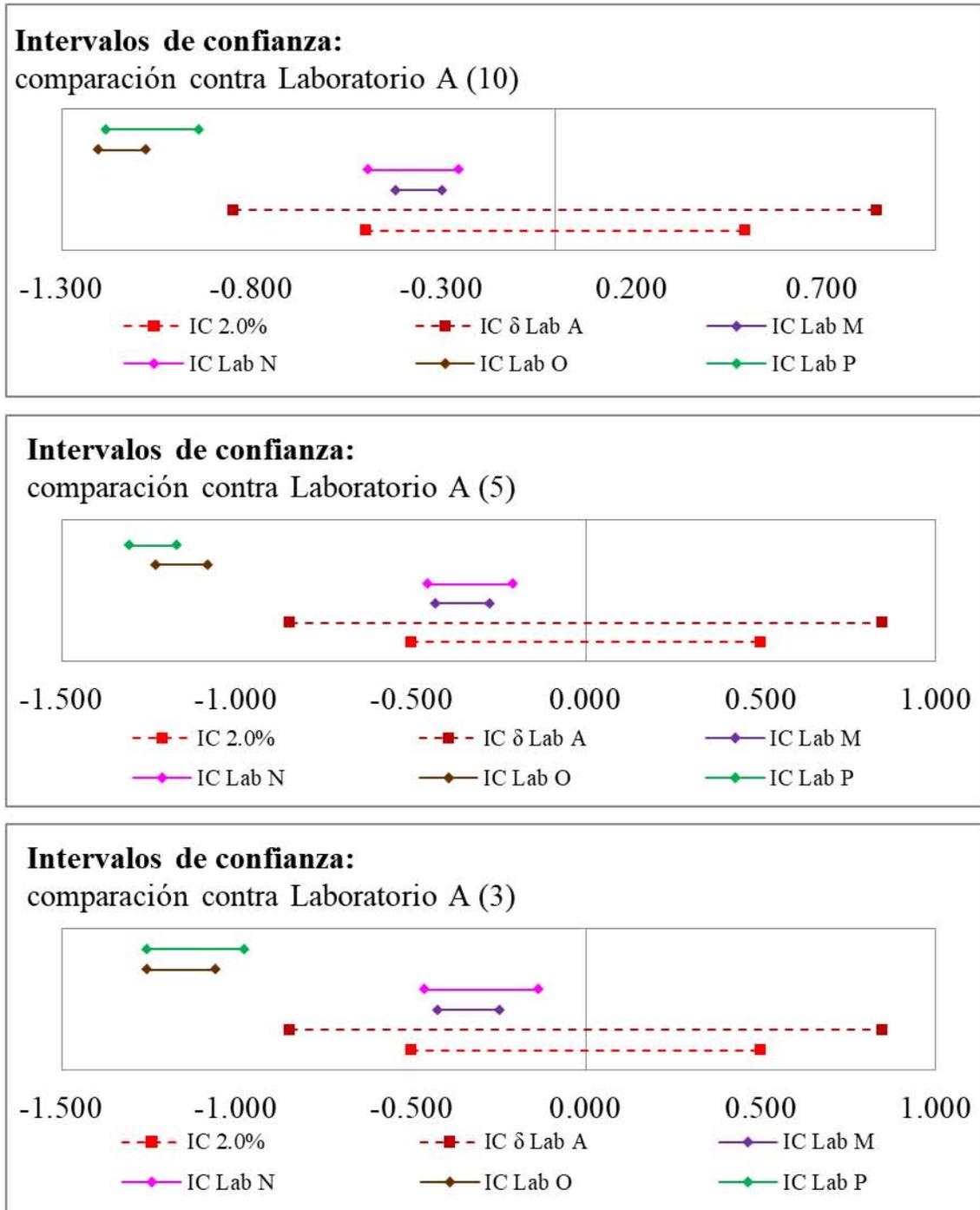
El ejercicio anterior está basado en el supuesto de que el laboratorio de desarrollo analiza 10 muestras independientemente preparadas y que el laboratorio receptor

prepara y analiza igual número de muestras para realizar la comparación estadística de resultados. Lo cual nos lleva a la pregunta: ¿Qué pasaría si el laboratorio receptor analizara menos de 10 muestras? Para tener una idea más clara se tomaron aleatoriamente 5 y 3 resultados de los laboratorios receptores y se hizo el cálculo de los intervalos de confianza.

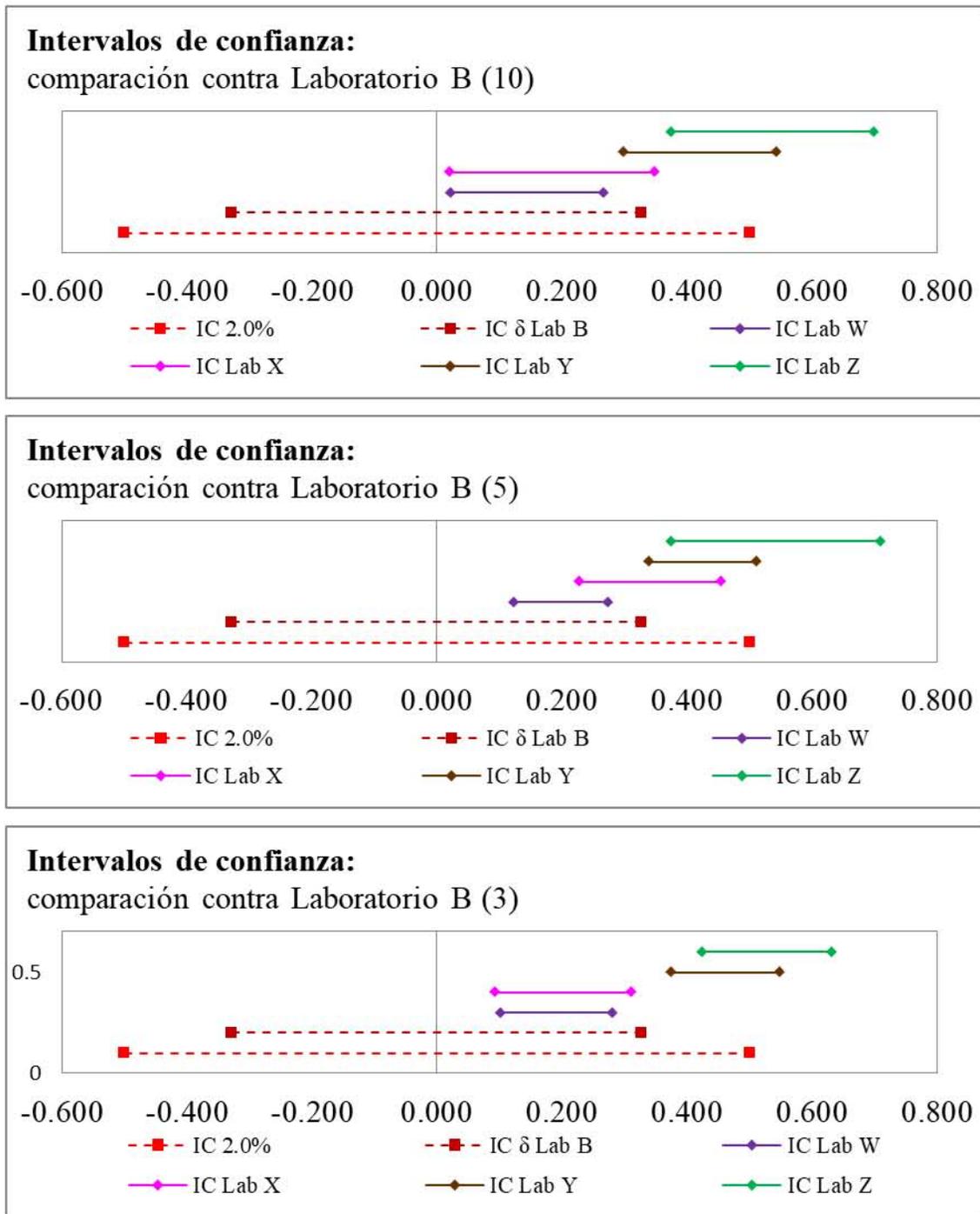
En el caso de las comparaciones contra el Laboratorio A, la reducción de determinaciones de 10 a 5 ó 3 no tiene efecto en la decisión tomada. Con cualquiera de los intervalos de la diferencia utilizado: $[-\theta, \theta]$ o $[-\delta, \delta]$.

En el caso de las comparaciones contra el Laboratorio B, la reducción de determinaciones de 10 a 5 no tiene efecto en la decisión tomada. Sin embargo la reducción a 3 implica una decisión diferente para el Laboratorio X cuando se utiliza el intervalo de diferencia $[-\delta, \delta]$. En la siguiente página se muestran las gráficas de los intervalos de confianza obtenidos.

Gráfica 9. Comparaciones contra el Laboratorio A, con n=10, 5, 3.



Gráfica 10. Comparaciones contra el Laboratorio B, con n=10,5,3



Usando por lo menos cinco determinaciones independientes, no debería existir un riesgo mayor de tomar una determinación incorrecta utilizando la prueba TOST de Schuirmann como método de comparación.

Comparación con β ETI: Para realizar esta prueba estadística se fijan los valores de aceptación $-\lambda$ y λ como -5.0% y 5.0% respectivamente y se toma la media obtenida analíticamente por el Laboratorio A o B como el valor verdadero y la diferencia entre la media obtenida por el laboratorio receptor y ese valor verdadero como el sesgo.

Para este cálculo se supondrá que los datos presentados de cada uno de los laboratorios fueron obtenidos en un diseño experimental de precisión intermedia. (El diseño propuesto es 3 réplicas hechas en 3 días diferentes por 3 analistas diferentes). Como se proporcionaron diez diferentes datos por laboratorio y solo se requieren nueve para la simulación de este experimento, se eliminó de las tablas el dato con la diferencia absoluta entre el dato y la media más baja. Los datos arreglados en la forma en que se utilizaron para la simulación del cálculo de β ETI se presentan a continuación:

Tabla 27. Datos para cálculo de intervalo de tolerancia de expectativa beta. Comparaciones contra el Laboratorio A.

Laboratorio A			
Réplica	Día 1	Día 2	Día 3
1	24.7858648	24.9389838	25.0109377
2	24.791972	24.9752312	25.083783
3	24.9085546	24.9969357	25.1018181

	Laboratorio M			Laboratorio N		
Réplica	Día 1	Día 2	Día 3	Día 1	Día 2	Día 3
1	25.18845876	25.23866996	25.37886151	24.95166503	25.18832205	25.27931361
2	25.19434313	25.3349568	25.43806783	25.15518912	25.65327605	25.67212912
3	25.22099317	25.34388773	25.48851056	25.49887749	25.57659771	24.99069427

	Laboratorio O			Laboratorio P		
Réplica	Día 1	Día 2	Día 3	Día 1	Día 2	Día 3
1	25.9032782	26.058015	26.1645259	25.4859982	26.1230124	26.2154985
2	26.0200938	26.0613858	26.2360474	25.6919411	26.1376327	26.2213241
3	26.02929	26.1196809	26.2504664	25.7385367	26.1633493	26.2526901

Tabla 28. Datos para cálculo de intervalo de tolerancia de expectativa beta. Comparaciones contra el Laboratorio B.

Laboratorio B			
Réplica	Día 1	Día 2	Día 3
1	24.6410451	24.8707256	25.2925176
2	24.7568853	24.9235307	25.3500119
3	24.7729027	24.9288591	25.4232421

Réplica	Laboratorio W			Laboratorio X		
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 1	Día 2	Día 3
1	24.6585733	24.792723	24.8883486	24.36078215	24.61281674	25.0891498
2	24.7462532	24.8722106	24.9327359	24.55792275	24.75459012	25.13593929
3	24.7764758	24.8737668	25.065461	24.60217856	24.95955108	25.19211875

Réplica	Laboratorio Y			Laboratorio Z		
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 1	Día 2	Día 3
1	24.4598565	24.50862	24.6132938	23.9204594	24.3805416	24.6388323
2	24.4844944	24.5251759	24.6906557	24.2297898	24.3850442	24.6418989
3	24.486718	24.5528575	24.8001868	24.3630654	24.6208169	24.9373855

Para realizar el cálculo en este modelo se deben calcular la varianza general $\hat{\sigma}_B^2$ (entre series de determinaciones analíticas) y la varianza intra-día $\hat{\sigma}_W^2$ (dentro de una corrida analítica). Así mismo, se debe calcular el cociente de la varianza general entre la varianza intra día.

Los resultados obtenidos de intervalo de tolerancia de expectativa beta son los siguientes absolutos (mg/Tab) y relativos (5). Los grados de libertad fueron estimados con la aproximación de Satterwaite y se utilizó el cuantil de la distribución de Student. (Para $\beta=95$):

Tabla 29. Resultados del cálculo del intervalo de tolerancia de expectativa beta para las comparaciones contra el Laboratorio A

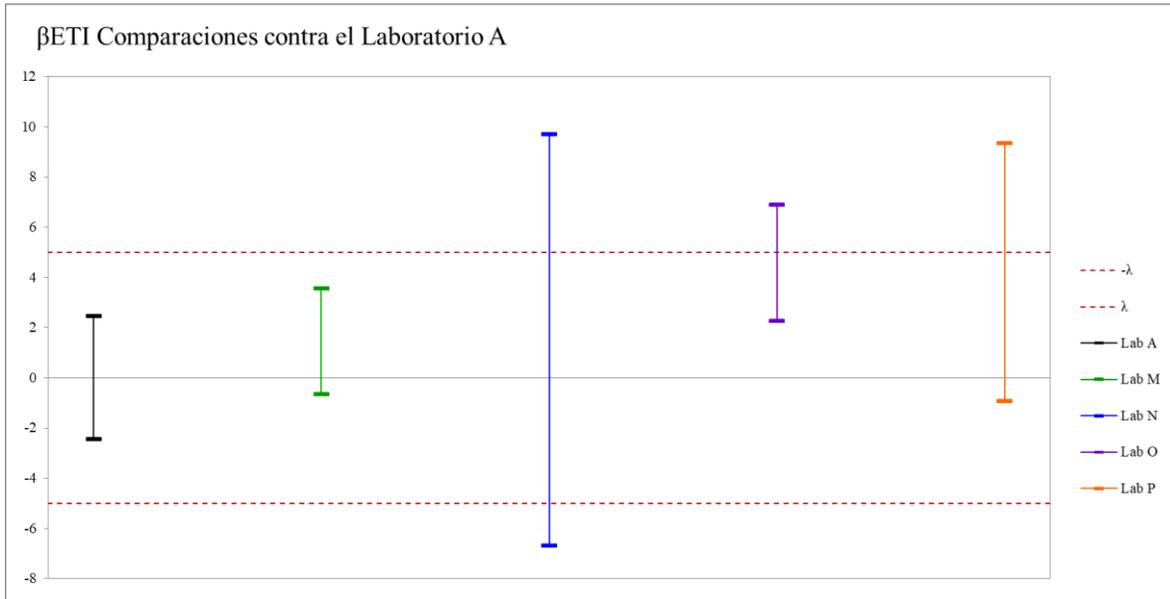
Absoluto					
	Laboratorio A	Laboratorio M	Laboratorio N	Laboratorio O	Laboratorio P
μ	24.95489787	25.31408327	25.32956272	26.09364258	26.00333145
σ_B	0.012629495	0.011973679	0.077794297	0.012334299	0.080924429
σ_W	0.002650883	0.002238767	0.085209088	0.00275171	0.006292359
R	4.764259523	5.348336587	0.912981213	4.482412728	12.86074643
Sesgo	0	0.359185402	0.374664846	1.138744714	1.04843358
Q1	4.334	3.94	4.66	4.334	3.94
k	4.931592299	4.489402287	5.141160573	4.927816471	4.522084855
v	3	2	4	3	2
p	3	3	3	3	3
n	3	3	3	3	3
$(1+\beta)/2$	48	48	48	48	48
β	95	95	95	95	95
SD _{IP}	0.123613826	0.119215965	0.403736777	0.122825116	0.295324885
LIIT	-0.609612993	-0.176023024	-1.701010755	0.533485083	-0.287050609
LSIT	0.609612993	0.894393829	2.450340447	1.744004345	2.38391777
Relativo					
	Laboratorio A	Laboratorio M	Laboratorio N	Laboratorio O	Laboratorio P
Sesgo	0	1.439338298	1.50136798	4.563211277	4.20131385
SD _{IP}	0.495348957	0.477725719	1.617865877	0.492188415	1.183434557
LIIT	-2.442859099	-0.705364635	-6.816340279	2.1377971	-1.150277636
LSIT	2.442859099	3.584041231	9.819076238	6.988625454	9.552905335

Tabla 30. Resultados del cálculo del intervalo de tolerancia de expectativa beta para las comparaciones contra el Laboratorio B

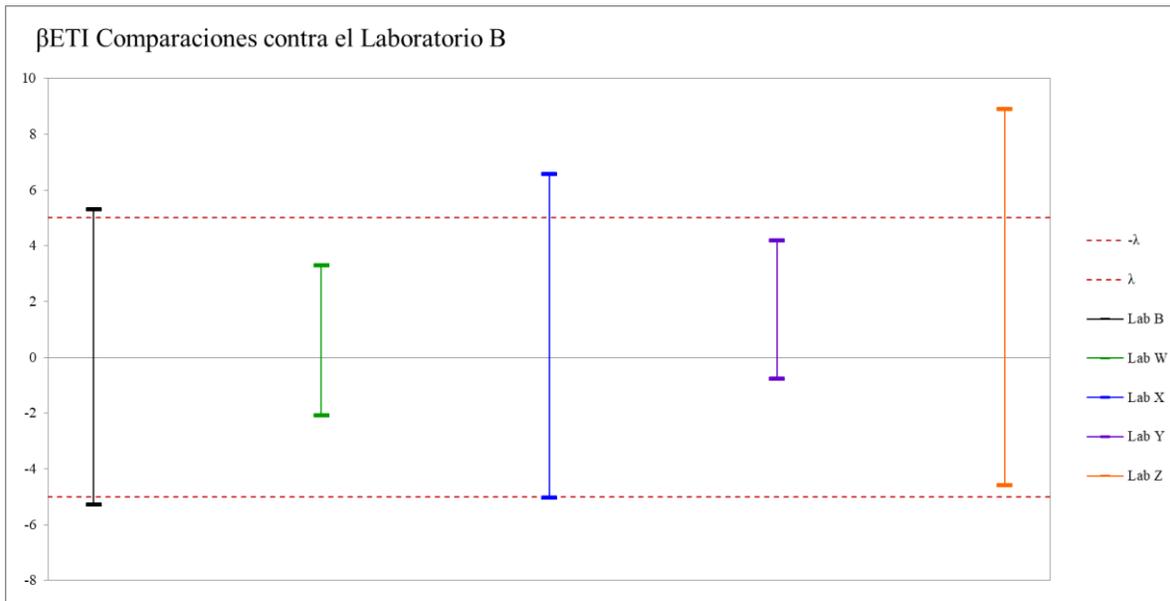
Absoluto					
	Laboratorio B	Laboratorio W	Laboratorio X	Laboratorio Y	Laboratorio Z
μ	24.99552448	24.84517201	24.80722769	24.56909538	24.4575371
σ_B	0.081771925	0.013960212	0.087869123	0.012732502	0.085525208
σ_W	0.003500852	0.004796995	0.016520922	0.003180096	0.033285815
R	23.35771968	2.910199566	5.318657304	4.003810134	2.569419066
Sesgo	0	0.150352467	0.188296788	0.426429104	0.537987379
Q1	3.94	4.334	3.94	4.334	4.334
k	4.533928455	4.896656516	4.489118009	4.920421963	4.886238712
v	2	3	2	3	3
p	3	3	3	3	3
n	3	3	3	3	3
$(1+\beta)/2$	48	48	48	48	48
β	95	95	95	95	95
SD _{IP}	0.29201503	0.136956953	0.323094484	0.126145149	0.344689749
LIIT	-1.323975252	-0.52027869	-1.262112478	-0.194258256	-1.146249018
LSIT	1.323975252	0.820983624	1.638706053	1.047116464	2.222223776
Relativo					
	Laboratorio B	Laboratorio W	Laboratorio X	Laboratorio Y	Laboratorio Z
Sesgo	0	0.601517551	0.753322011	1.706021831	2.152334828
SD _{IP}	1.168269263	0.547925903	1.292609339	0.504670941	1.378758997
LIIT	-5.296849254	-2.081487391	-5.049353851	-0.777172152	-4.584610758
LSIT	5.296849254	3.284522492	6.555997873	4.189215813	8.889280415

Los intervalos de tolerancia de expectativa beta relativos (%) se pueden presentar mediante una representación gráfica similar a la que se utiliza en los perfiles de exactitud junto con los límites de aceptación (-5.0%, 5.0%):

Gráfica 11. Intervalo de tolerancia de expectativa beta, comparaciones contra el Laboratorio A



Gráfica 12. Intervalo de tolerancia de expectativa beta, comparaciones contra el Laboratorio B



En las comparaciones contra el Laboratorio A, cuando se aplica el cálculo del intervalo de tolerancia de expectativa beta ($\beta=95$) para evaluar los resultados de la transferencia analítica con límites ($-\lambda$, λ) de -5.0% a 5.0% únicamente se califica la transferencia al Laboratorio M como exitosa. Mientras tanto que en las

comparaciones con el Laboratorio B, se pueden calificar las transferencias a los Laboratorios W y Y como exitosas; aunque ocurre algo inesperado que es que el intervalo calculado del Laboratorio B excede los límites $(-\lambda, \lambda)$; lo cual nos habla de una dispersión excesiva en el Laboratorio experto, ya que esta variabilidad proviene únicamente de la repetibilidad del experimento pues la contribución del sesgo en este caso equivale a cero.

Comparando los resultados del intervalo (β ETI con límites $\pm 5.0\%$) contra los resultados obtenidos con la prueba de equivalencia TOST de Schuirmann (con límite δ); se observa que en el caso de las comparaciones contra el Laboratorio A ambos métodos coinciden en considerar la transferencia al Laboratorio M como exitosa; sin embargo la transferencia al Laboratorio N que la prueba TOST considera exitosa el cálculo de β ETI no la considera así. También coinciden ambos métodos en considerar las transferencias a los Laboratorios O y P como fallidas. En el caso de las comparaciones contra el Laboratorio B ambos métodos consideran la transferencia al Laboratorio W como exitosa y las transferencias a los Laboratorios X y Z como fallidas. Sin embargo difieren en la conclusión respecto al Laboratorio Y, ya que utilizando TOST se considera no exitosa y utilizando el cálculo de β ETI si se considera exitosa.

El cálculo del intervalo β ETI considera el sesgo, es decir la diferencia entre el resultado analítico y el valor que se considera verdadero y la dispersión intra-día atribuible a la variabilidad en una única corrida analítica (la mayor parte de las veces cromatográfica) así como la dispersión inter-día atribuible al uso de diferentes instrumentos (diferentes sistemas cromatográficos) y a la participación de diversos analistas. Este enfoque es bastante robusto para evaluar los resultados de una transferencia analítica.

En conclusión, todos los modelos anteriores se pueden utilizar para evaluar los resultados de una transferencia analítica, cada uno de ellos tiene ventajas y desventajas que le son inherentes y de estas ventajas y desventajas se puede deducir el nivel de riesgo que representan. Este riesgo es el de incurrir en un error

Tipo I o Tipo II al juzgar el resultado de la transferencia; y por lo tanto afectar la calidad del medicamento o descartar como inválida una transferencia exitosa.

Tabla 31. Conclusiones de la aplicación de los modelos estadísticos a los datos simulados

Modelo de comparación	Ventajas	Desventajas
Prueba t de dos muestras	<ul style="list-style-type: none"> ▪ El estadístico es sencillo de calcular e interpretar. ▪ Es ampliamente conocido. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ La dispersión alta favorece la aceptación de la hipótesis nula aún con medias distantes. ▪ La dispersión baja favorece el rechazo de la hipótesis nula aún con medias cercanas.
ANOVA o ANADEVA	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Puede ayudar a comparar más de un grupo si se aplica junto con una prueba post-hoc (Por ejemplo de Tukey). 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Tiene las mismas desventajas que la prueba t de dos muestras. ▪ Si se aplica a dos grupos, es exactamente igual que la prueba t de dos muestras.
TOST [$\theta=2.0\%$] O con un valor fijo.	<ul style="list-style-type: none"> ▪ No requiere contar con un historial previo. ▪ Se puede juzgar el resultado visualmente. ▪ Una mayor dispersión de los datos, aumenta las probabilidades de declarar fallida la transferencia. ▪ Una menor dispersión de los datos aumenta las probabilidades de éxito. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Los valores de aceptación son fijos y pueden no responder a las necesidades específicas de cada laboratorio. ▪ Un valor fijado de manera arbitraria puede ser muy cuestionado durante una auditoría.
TOST [$\theta=\delta$]	<ul style="list-style-type: none"> ▪ El criterio de aceptación está basado en el comportamiento del producto. ▪ Se puede juzgar el resultado visualmente. ▪ Una mayor dispersión de los datos, aumenta las probabilidades de declarar fallida la transferencia. ▪ Una menor dispersión de los datos aumenta las probabilidades de éxito. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Requiere contar con información histórica. ▪ Técnicamente es un poco más complicado de entender y explicar.

El escenario ideal por ser el que conlleva menor riesgo y mayores ventajas, es el de aplicar una prueba TOST de Schuirmann con δ como límite. El siguiente escenario en relevancia sería una prueba TOST de Schuirmann con valores fijos.

Mientras que el uso de la prueba t de dos muestras o de ANOVA/ANADEVA no sería recomendable dadas sus desventajas.

Existe otro procedimiento similar a la utilización de la prueba de TOST de Schuirmann con δ como límite para comparar las medias de los resultados analíticos de dos laboratorios en un ejercicio de transferencia; este procedimiento exige un análisis más detallado de los datos de la validación original del método en el laboratorio originador y la selección de un criterio máximo de aceptación de valor fijo.

Este procedimiento es propuesto por De Fontenay fue derivado de un estudio estadístico con datos simulados mediante el algoritmo de Montecarlo. El estudio consideró la probabilidad de caer en un error de tipo I o II y la probabilidad de que la transferencia fuera exitosa. (De Fontenay, 2007). Para utilizarlo primero se debe de calcular el Cp o capacidad del método analítico con la siguiente ecuación:

$$C_p = \frac{IT}{6\sigma}$$

Donde: IT es el intervalo de tolerancia (Límite superior de especificación – Límite inferior de especificación) y σ es el RSD obtenido en la prueba de precisión intermedia de la validación del método. El Cp debe tener un valor alto para poder decir que el método analítico tiene una buena repetibilidad.

Después de obtener el Cp del método analítico es necesario calcular la proporción de la variabilidad en una corrida analítica (intra-día) con la variabilidad de la prueba de precisión intermedia. Para lo cual se deben utilizar las siguientes ecuaciones:

$$RSD_{IP} = \frac{\sigma_W + \sigma_B}{\mu}$$

$$RSD_R = \frac{\sigma_W}{\mu}$$

$$RSD_{relación} = RSD_R / RSD_{IP}$$

Donde: μ es la media obtenida, σ_w es la desviación estándar atribuible a la variación en réplicas en una sola corrida analítica, normalmente preparadas por un solo analista y procesadas en un solo equipo. Mientras que σ_B es la desviación estándar atribuible a la variabilidad entre días; es decir de muestras preparadas en días independientes, por diferentes analistas y corridas en diferentes equipos.

Con estos datos el autor propone una tabla de valores fijos de donde se selecciona el criterio de aceptación con base en la relación de RSD, el número de réplicas por corrida que se harán y la capacidad Cp calculada del método. Los valores fijos propuestos por el autor van desde 1.1 hasta 2.6 para las diferencias entre las medias de los laboratorios. Este procedimiento es robusto pues considera la variabilidad encontrada en la validación mediante la prueba de precisión intermedia y la posibilidad de caer en errores de tipo I y II.

Modelos estadísticos para comparación de la dispersión, aplicables a la prueba de uniformidad de dosis:

Se han propuesto algunos otros modelos estadísticos que no comparan la media de dos grupos sino las dispersiones de dos grupos: la prueba de Bartlett, la prueba de Levene y la prueba F para varianzas.

Comparación con la prueba de Levene: La prueba de Levene es la prueba más robusta para realizar comparación de varianzas de dos grupos, ya que no depende mucho de que tanto se ajustan a la normalidad los datos. (NIST, 2017) Para el cálculo del estadístico se pueden utilizar el promedio o la mediana de cada grupo. (Ver la Tabla 45).

El promedio se obtiene de acuerdo a la fórmula siguiente:

$$Promedio = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

Mientras tanto que la mediana se obtiene de la siguiente manera, la ecuación de arriba para n impar y la de abajo para n par:

$$Mediana = \begin{cases} x_{((n+1)/2)} \\ \frac{x_{(n/2)} + x_{((n/2)+1)}}{2} \end{cases}$$

Donde hay n datos y se ordenan desde x_1 hasta x_n en orden creciente. (Hines & Montgomery, 2013). Ambas son medidas de tendencia central que muestran características muy particulares, el promedio es un cálculo totalmente aritmético y la mediana incluye ordenar primero los datos en orden creciente. La mediana al derivarse de la posición del dato en el orden, es menos sensible a datos extremos que el promedio. Para decidir cuál de estas dos medidas de tendencia central es mejor para comparar las dispersiones de datos de uniformidad de contenido en una transferencia analítica se pueden comparar las varianzas de los datos simulados con la prueba de Levene, primero con el promedio y luego con la mediana.

Para lo siguiente, podemos suponer que los datos simulados provienen cada uno de los diez disponibles por laboratorio de una única unidad de dosificación y que fueron obtenidos con el objetivo de calcular el valor AV de acuerdo al Capítulo General <905> de la USP 39ª Edición o de acuerdo al MGA 0299 de la FEUM 11ª Edición durante un ejercicio de transferencia analítica.

El valor AV como se vio anteriormente es una medida de la homogeneidad del ingrediente activo a través del lote; es un análisis multi-etapa: lo cual quiere decir que si no se cumple con el criterio de aceptación en la primera etapa con diez unidades ($AV < 15.0$) se procede a hacer un muestreo expandido antes de dictaminar el lote como fallido.

Primero tenemos que suponer que el valor target (T) es 25.00 mg/Tableta (100.0%); es decir que la formulación está hecha exactamente con la cantidad requerida por unidad de dosificación. De los dos casos posibles, nos encontramos en el Caso 1 porque $T \leq 101.5$; y aquí existen tres posibles opciones para el valor de M: 98.5, promedio o 101.5 y debemos escoger uno de ellos de acuerdo al valor del promedio:

Tabla 32. Valores M para cálculo de uniformidad de dosis por uniformidad de contenido (Presentados como porcentaje)

	Laboratorio A	Laboratorio M	Laboratorio N	Laboratorio O	Laboratorio P
μ	99.82	101.25	101.32	104.38	104.06
M	99.82	101.25	101.32	101.50	101.50
	Laboratorio B	Laboratorio W	Laboratorio X	Laboratorio Y	Laboratorio Z
μ	99.96	99.38	99.22	98.28	97.81
M	99.96	99.38	99.22	98.50	98.50

En la tabla podemos ver que para ambos laboratorios de referencia el promedio obtenido ha caído en el intervalo $98.5\% \leq \mu \leq 101.5\%$; lo cual implica que el valor de aceptación dependerá únicamente de la dispersión (desviación estándar) sin involucrar la diferencia entre el promedio y M porque ambos valores son iguales. Los Laboratorios M y N que se comparan contra el Laboratorio A, se encuentran en la misma situación, lo mismo que los Laboratorios W y X que se comparan contra el Laboratorio B.

El resto de los laboratorios (O, P, Y y Z) se encuentran en una situación diferente pues las medias que han obtenido están fuera del intervalo mencionado: $98.5\% \leq \mu \leq 101.5\%$ y por lo tanto la diferencia entre la media obtenida y el valor de M aumentará el valor calculado de AV por ser diferente al promedio. El hecho de que existan los límites 98.5% - 101.5% para el valor T, se debe a que con ellos se evita que el valor diana de ingrediente activo de la formulación se aleje mucho del indicado en el marbete.

Al hacer el cálculo de AV utilizando el factor de cobertura de la desviación estándar para la primera etapa (2.4) todos los laboratorios obtienen un valor de $AV < 15.0$ como se muestra a continuación:

Tabla 33. Valores AV calculados

	Laboratorio A	Laboratorio M	Laboratorio N	Laboratorio O	Laboratorio P
μ	99.82	101.25	101.32	104.38	104.06
M	99.82	101.25	101.32	101.50	101.50
σ	0.42	0.41	1.05	0.42	1.08
$2.4*\sigma$	1.02	0.99	2.52	1.01	2.59
AV	1.0	1.0	2.5	3.9	5.2
	Laboratorio B	Laboratorio W	Laboratorio X	Laboratorio Y	Laboratorio Z
μ	99.96	99.38	99.22	98.28	97.81
M	99.96	99.38	99.22	98.50	98.50
σ	1.08	0.45	1.12	0.43	1.10
$2.4*\sigma$	2.59	1.07	2.68	1.02	2.65
AV	2.6	1.1	2.7	1.2	3.3

En las comparaciones contra el Laboratorio A, puede verse que el Laboratorio M obtuvo exactamente el mismo valor, mientras que los valores obtenidos por los otros laboratorios fueron mayores. El valor obtenido por el Laboratorio P es 520% del valor obtenido por el Laboratorio A; lo cual a primera instancia parece una situación bastante preocupante. Ninguno de los laboratorios receptores obtuvo un valor de AV menor que el obtenido por el Laboratorio A.

En las comparaciones contra el Laboratorio B, puede verse que los Laboratorios W y Y obtuvieron valores menores de AV. Esto puede representar un problema porque solo existen dos razones a las cuales se les puede atribuir esta situación: el lote tiene una dispersión mayor de la determinada por el laboratorio de referencia o la precisión analítica del laboratorio receptor es mejor que la del laboratorio de desarrollo o referencia. Kirschbaum señala que en algunos casos que involucren transferencias inter-laboratorio de técnicas analíticas por HPLC; puede descubrirse durante la transferencia que el laboratorio receptor ha obtenido mejores resultados que el laboratorio que transfiere y eso puede llevar a la necesidad de desarrollar el método de nuevo. (Kirschbaum, 1989).

Esta situación pone de manifiesto la necesidad de hacer una evaluación estadística exhaustiva de los resultados obtenidos para determinar uniformidad de dosis por el método de uniformidad de contenido. Como se puede ver en este

caso se trata no solo de demostrar que las medias son iguales o equivalentes; si no que las dispersiones son similares.

Para fines de transferencia analítica es imposible evitar la posibilidad de que el promedio obtenido por un laboratorio se encuentre en un lado de los límites y por lo tanto se aplique un criterio diferente al utilizado por el laboratorio originador. Si por ejemplo, la media de un laboratorio es 98.6%; calcularía el valor AV solo como el producto de la desviación estándar por el factor de cobertura (2.4); y si un laboratorio que pretenda compararse con este primer laboratorio obtuviera una media de 98.4% tendría que calcular el valor AV como la suma de la diferencia de 98.5 - 98.4 sumada al producto de la desviación estándar por el factor de cobertura (2.4). A pesar de que la diferencia en las medias de 0.2 es poco probable que sea atribuible a algo diferente a la mera variabilidad analítica.

El Reporte No. 961 de la OMS sugiere aplicar una prueba TOST de Schuirmann con límites de [-3.0%, 3.0%]. Los límites sugeridos por este mismo documento para una prueba de ensayo son de [-2.0%, 2.0%]; es probable que los autores hayan pensado en límites menos restrictivos para uniformidad de contenido porque realizar una preparación de muestra por cada unidad de dosificación conlleva a que la variabilidad del proceso se verá reflejada en la variabilidad analítica. ¿Existe una correlación al aplicar la prueba de Levene con el promedio o con la mediana y la comparabilidad de los valores AV obtenidos por los diferentes laboratorios?, para resolver la pregunta debemos ver los resultados de las pruebas aplicadas a los resultados de todos los laboratorios:

Tabla 34. Resultados de la prueba de Levene usando el promedio y la mediana

Estadístico	Laboratorio M	Laboratorio N	Laboratorio O	Laboratorio P
Promedio	0.023	8.987	0.000	10.125
Mediana	0.023	8.329	0.000	2.011
Estadístico	Laboratorio W	Laboratorio X	Laboratorio Y	Laboratorio Z
Promedio	7.636	0.036	8.088	0.041
Mediana	3.414	0.170	3.623	0.000

En todos los casos el estadístico debe ser comparado contra $F_{0.05, 1, 18}=4.41$, ya que se eligió una significancia de 0.05, y la prueba tiene 1 (número de grupos comparados menos 1) y 18 (total de datos menos el número de grupos) grados de libertad. De acuerdo a esta condición, los Laboratorios M, O y P tienen una varianza estadísticamente igual a la del Laboratorio A al calcular el estadístico de Levene con la mediana mientras que, al calcularlo con el promedio, solo los Laboratorios M y O tienen una varianza estadísticamente igual a la del Laboratorio A.

En las comparaciones contra el Laboratorio B, los Laboratorios W y Y no tienen igualdad de dispersión cuando se hace el cálculo con el promedio; sin embargo al hacer el cálculo con la mediana todos los datos muestran igualdad estadística. Los Laboratorios W y Y no muestran igualdad estadística al Laboratorio B; sin embargo esto se debe a que la dispersión obtenida es más baja.

En resumen, al realizar el cálculo de la prueba de Levene con la mediana se obtienen valores menores del estadístico y hay más probabilidades de aceptar la hipótesis nula de que las medias son iguales. Mientras tanto que, con el promedio la prueba se vuelve mucho más restrictiva; como estamos utilizando la desviación estándar para el valor AV es conveniente que la prueba sea restrictiva y por lo menos en este caso es mucho más seguro utilizar la prueba utilizando el promedio.

Comparación con la prueba F: Si comparamos las varianzas de los laboratorios utilizando la prueba F de igualdad de varianzas obtenemos lo siguiente (esta prueba es más sencilla de calcular, ya que solo requiere calcular el cociente de una varianza sobre otra):

Tabla 35. Resultados de la prueba F para comparación de varianzas

Laboratorio M	Laboratorio N	Laboratorio O	Laboratorio P
1.054637	0.162352	1.024009	0.153656
Laboratorio W	Laboratorio X	Laboratorio Y	Laboratorio Z
5.878273	0.933868	6.445089	0.957896

En esta prueba los resultados del cociente deben estar dentro del rango $[1/F_{\alpha/2, n1-1, n2-1}, F_{\alpha/2, n1-1, n2-1}]$ para que se acepte la hipótesis nula de la igualdad de varianzas. En este caso la $F_{0.25, 9, 9}=1.59$ y por lo tanto su inverso vale 0.63; el cociente de las varianzas debe estar en el intervalo [0.63, 1.59]. Dados estos valores, los Laboratorios N, P, W y Y no muestran igualdad estadística de su dispersión (homoscedasticidad) con sus respectivos laboratorios de referencia. Esta es exactamente la misma conclusión a la que llegamos con la prueba de Levene calculada con el promedio; aunque nos llevaron a la misma conclusión es factible que durante una transferencia analítica se prefiera la prueba F para igualdad de varianzas por ser mucho más sencilla y conocida que la prueba de Levene.

Modelos estadísticos para la comparación de la disolución.

De acuerdo con el Reporte Técnico No. 961 de la OMS (World Health Organization, 2011) si se trata de una forma farmacéutica de liberación inmediata se deben comparar los porcentajes disueltos con la prueba TOST, mientras que en el caso de formas farmacéuticas de liberación prolongada se deben comparar los perfiles de disolución con una prueba como f2.

Los criterios de aceptación de la prueba de disolución por etapas para disolución con un solo punto de muestreo, de acuerdo al Método General de Análisis 0291 de la FEUM 11ª Edición y el Capítulo General <711> de la USP 39ª Edición se muestran a continuación.

Tabla 36. Criterios de la prueba de disolución con el criterio Q para formas farmacéuticas de liberación inmediata

Etapa (Stage)	Unidades de dosificación	Criterios de aceptación
1	6	Ninguna unidad es menor de Q+5%
2	6+6=12	El promedio de las 12 unidades es igual o mayor a Q y ninguna unidad es menor de Q-15%
3	12+12=24	El promedio de las 24 unidades es igual o mayor a Q, no más de dos unidades son menores de Q-15% y ninguna unidad es menor de Q-25%

Fuentes: Método General de Análisis 291 de la FEUM (Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos 11a Edición, 2014) y Capítulo General <711> de la USP (USP 39a Edición, 2016)

Tabla 37. Criterios de la prueba de disolución con el criterio Q para formas farmacéuticas de liberación retardada

Etapa (Stage)	Unidades de dosificación	Criterios de aceptación
1	6	Ningún valor individual cae fuera de los rangos establecidos y ningún valor individual es menos que el porcentaje establecido en el tiempo final de la prueba.
2	6+6=12	El valor promedio de las 12 unidades cae dentro de los rangos establecidos y no es menos que el porcentaje establecido en el tiempo final de la prueba.
3	12+12=24	El valor promedio de las 24 unidades cae dentro de los rangos establecidos y no es menos que el porcentaje establecido en el tiempo final de la prueba. No más de 2 de las 24 unidades están por fuera del +10% del contenido del marbete fuera de los rangos establecidos; no más de 2 de las 24 unidades están por fuera del -10% del contenido del marbete fuera de los rangos establecidos. Ninguna de las unidades está fuera del $\pm 20\%$ del contenido del marbete fuera de los rangos establecidos en el tiempo final de la prueba.

Fuente: Capítulo General <711> de la USP (USP 39a Edición, 2016)

El factor de similitud f_2 aparece en la normatividad mexicana en la NOM-177-SSA1-2013 para intercambiabilidad y biocomparabilidad (NOM-177-SSA1, 2013). Esta Norma Oficial Mexicana establece los requisitos, pruebas y criterios de aceptación para considerar que un medicamento es intercambiable con otro; es lógico pensar que, si se están comparando dos medicamentos provenientes de diferentes procesos y de diferentes compañías en algunos casos los criterios de aceptación serán menos restrictivos que los que se deberían de aplicar si se trata de una transferencia analítica, en la cual se trata de dos laboratorios con

colaboración cercana, condiciones similares, el mismo producto y el mismo lote de producto.

Para considerar que los perfiles de disolución de dos medicamentos son similares, la Norma establece que el factor de similitud debe de ser de al menos 50. Este valor de 50 corresponde a una diferencia promedio en cada tiempo de muestreo de 10% absolutos. F2 se calcula de acuerdo a la fórmula siguiente:

$$f_2 = 50 * \log \left\{ \left[1 + \left(\frac{1}{n} \right) \sum_{t=1}^n (R_t - P_t)^2 \right]^{-0.5} * 100 \right\}$$

Si suponemos que en todos los n puntos de muestreo $R_t - P_t = 10$, la ecuación se reduciría a lo siguiente:

$$f_2 = 50 * \log \left\{ \left[1 + \left(\frac{1}{n} \right) n * (10)^2 \right]^{-0.5} * 100 \right\}$$

Simplificando más la expresión anterior:

$$f_2 = 50 * \log \{ [1 + 10^2]^{-0.5} * 100 \} = 50$$

Si en esta expresión sustituimos el 10, por la diferencia promedio en cada tiempo de muestreo, obtendremos el valor mínimo que debería tener el factor de similitud f2 para probar una diferencia máxima que se desee:

Tabla 38. Valor mínimo del factor de similitud f2 para diferentes diferencias máximas deseadas en cada punto de muestreo

Diferencia	Valor mínimo de f2	Diferencia	Valor mínimo de f2
10	50	5	65
9	52	4	69
8	55	3	75
7	58	2	83
6	61	1	92

En esta tabla se puede ver que si se desea probar una diferencia máxima de 5%, el factor de similitud f2 debe ser 65 o mayor y, si la diferencia máxima se reduce a 3% el factor de similitud f2 debe ser de 75 o mayor. Se sugiere adoptar un criterio más estricto del valor f2 para el caso de transferencias analíticas, el Reporte Técnico No. 961 de la OMS sugiere una prueba TOST de Schuirmann para pruebas de disolución con un solo tiempo de muestreo (formas farmacéuticas de

liberación inmediata) con límites de [-3%, 3%] de manera análoga para formas farmacéuticas de liberación prolongada el criterio debería ser de $f_2 > 75$ para adoptar la misma diferencia de 3%.

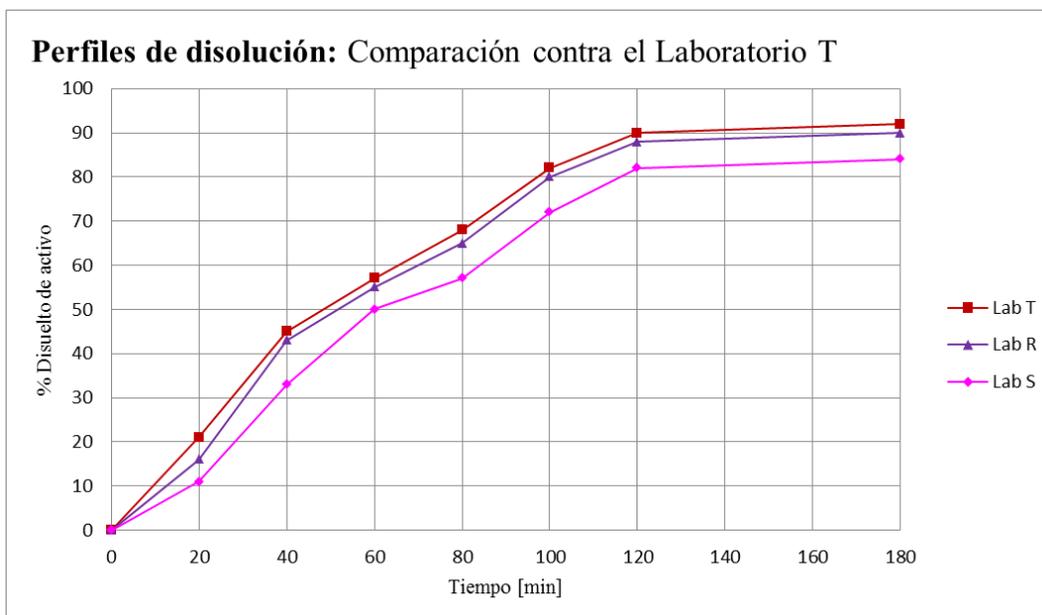
Para proporcionar un panorama gráfico de la diferencia de criterios en la evaluación de similitud de perfiles de disolución con f_2 se proporcionará el siguiente ejemplo ficticio:

Los Laboratorios R y S están recibiendo una transferencia analítica del Laboratorio T que se dedica a desarrollo analítico. El método analítico transferido es el perfil de disolución de un producto con tiempos de muestreo a los 20, 40, 60, 80, 100, 120 y 180 minutos; los laboratorios calcularán los factores f_1 y f_2 para evaluar el éxito de la transferencia:

Tabla 39. Comparación de perfiles de disolución Laboratorios T, R y S

Laboratorio T		Laboratorio R				Laboratorio S				
Tiempos [min]	μ_6 Tabs [%]	μ_6 Tabs [%]	RSD	\Delta	Δ^2	μ_6 Tabs [%]	RSD	\Delta	Δ^2	
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
20	21	16	20	5	25	11	20	10	100	
40	45	43	9	2	4	33	9	12	144	
60	57	55	8	2	4	50	8	7	49	
80	68	65	8	3	9	57	8	11	121	
100	82	80	5	2	4	72	5	10	100	
120	90	88	2	2	4	82	2	8	64	
180	92	90	2	2	4	84	2	8	64	
				f_1	4				f_1	15
				f_2	76				f_2	51

Gráfica 13. Perfiles de disolución Laboratorios T, R y S



El Laboratorio T ha obtenido en todos los puntos de muestreo un valor más alto que los Laboratorios R y S; sin embargo los valores obtenidos por el Laboratorio R han sido más cercanos a los del laboratorio de referencia que los obtenidos por el laboratorio S.

Si aplicamos el criterio de que el valor f_2 debe ser mínimo 50, la transferencia a ambos laboratorios receptores sería calificada como exitosa. Sin embargo como se puede ver en la gráfica los resultados del Laboratorio S están claramente distanciados de los resultados de los otros laboratorios. Si se tratara de un estudio de bioequivalencia es posible que los resultados fueran aceptables pues se trata de un proceso de manufactura diferente; sin embargo en el caso de la transferencia analítica sería deseable que los resultados fueran más cercanos entre sí.

Si se hubiera fijado el valor mínimo de f_2 como 65, solo la transferencia con el Laboratorio R hubiera sido exitosa; este valor probaría una diferencia aproximada en los resultados de cada tiempo de muestreo de 5% absoluto entre los resultados del laboratorio de desarrollo y el laboratorio receptor.

De igual manera, si se hubiera fijado el valor mínimo de f_2 como 75, solo la transferencia con el Laboratorio R también hubiera sido exitosa. Una diferencia promedio de 3% absoluto en cada tiempo de muestreo proveería un mayor aseguramiento de la calidad de los resultados; y reduciría el potencial de errores de Tipo I y II. Dado que en una transferencia analítica se analizaría el mismo lote de producto en dos laboratorios diferentes pero en estrecha colaboración; una diferencia promedio menor al 3% absoluto en cada tiempo de muestreo es una expectativa realista.

CONCLUSIONES

1. Se han explorado a lo largo de la monografía el concepto de transferencia analítica y su clasificación; los requisitos para llevarlas a cabo y el proceso completo desde la elaboración del protocolo hasta el análisis de datos.
2. Se han presentado de manera comparativa los textos de regulaciones de buenas prácticas de manufactura correspondientes a varios países. La mayor parte de ellas no hablan del concepto de transferencia de tecnología; sin embargo la regulación mexicana y europea si mencionan el concepto y algunos requerimientos. Algo muy similar ocurre con la farmacopea estadounidense que también da lineamientos generales y provee una clasificación. La regulación brasileña es la única que enlista pruebas específicas e incluso establece un máximo para criterios de aceptación. Como guías de utilidad al realizar una transferencia analítica se pueden utilizar el Reporte Técnico No. 961 de la OMS y el capítulo 3 de la guía ISPE para Buenas Prácticas de Transferencia de Tecnología que proveen pruebas y criterios de aceptación así como diseños experimentales.
3. Se ha propuesto un modelo estadístico que permite discernir con alto grado de confiabilidad un resultado aceptable de uno que no lo es. Este modelo está completamente basado en las recomendaciones del Reporte Técnico No. 961 de la OMS y el capítulo 3 de la guía ISPE para Buenas Prácticas de Transferencia de Tecnología interpretadas en conjunto con la información provista en el Capítulo General <1010> “Datos analíticos” de la Farmacopea de los Estados Unidos de América.
4. En el Anexo 2 se presenta toda la información resumida en forma de procedimiento normalizado de operación, además este procedimiento ofrece una tabla, basada en el modelo propuesto, de selección de pruebas estadísticas y criterios de aceptación dependiendo del tipo de prueba analítica.

ANEXO 1. PRUEBAS ESTADÍSTICAS DISPONIBLES.

Resumen de las pruebas estadísticas utilizadas en el desarrollo de la monografía, incluyendo pruebas de hipótesis, variables y ecuaciones.

Prueba t para dos muestras: La prueba t para dos muestras es el estadístico más común para comparar las medias de dos poblaciones; esta prueba sirve para aceptar o rechazar la hipótesis nula de que las medias de dos poblaciones son iguales. La prueba t para dos muestras busca demostrar igualdad estadística y no busca mostrar equivalencia.

A continuación se describe el cálculo del estadístico de prueba T y las hipótesis de la prueba, y también se incluye la ecuación de Welch-Satterthwaite para estimar los grados de libertad cuando no se asume la homoscedasticidad de las poblaciones. Si la varianza de ambas poblaciones es igual (poblaciones homoscedásticas) los grados de libertad pueden ser calculados mediante la suma del total de la población de ambos grupos menos 2.

Hipótesis nula: $\bar{x} = \bar{y}$

Hipótesis alterna: $\bar{x} \neq \bar{y}$

La hipótesis nula se rechaza si $T > t_{1-\alpha/2, v}$; y se acepta la hipótesis alterna, donde $t_{1-\alpha/2, v}$ es el valor tabulado en la distribución t.

Tabla 40. Prueba t para dos muestras

Ecuaciones	Literales
$T = \frac{\bar{x} - \bar{y}}{\sqrt{\left(\frac{S_x^2}{n_x} + \frac{S_y^2}{n_y}\right)}}$ $v = \frac{\left(\frac{S_x^2}{n_x} + \frac{S_y^2}{n_y}\right)^2}{\left(\frac{(S_x^2/n_x)^2}{n_x - 1}\right) + \left(\frac{(S_y^2/n_y)^2}{n_y - 1}\right)}$ $v = n_x + n_y - 2$	<p>n_x =tamaño del grupo x</p> <p>n_y =tamaño del grupo y</p> <p>S_x^2 =varianza del grupo x</p> <p>S_y^2 =varianza del grupo y</p> <p>v =grados de libertad</p>
Fuentes: (Hines & Montgomery, 2013) y (NIST, 2017)	

Análisis de varianza (ANOVA o ANADEVA) de una vía y la prueba de Tukey:

Desde un punto de vista estadístico, se podría considerar un análisis de varianza de una vía como una alternativa para el análisis de los datos experimentales obtenidos durante una transferencia analítica. Cuando únicamente se desea comparar los resultados del laboratorio que transfiere con los resultados de la unidad receptora exactamente el mismo resultado puede obtenerse de una prueba t de dos muestras. En el libro "*Understanding statistics*" (Chalmer, 1987) se explica que de hecho una ANOVA de una vía con solo dos tratamientos o poblaciones rinde exactamente el mismo resultado que una prueba t para dos muestras; el estadístico F calculado en la ANOVA corresponde al cuadrado del estadístico t calculado en la prueba t de dos muestras, para esta prueba las hipótesis son las siguientes:

Hipótesis nula: $m_1=m_2=\dots=m_j$

Hipótesis alterna: *al menos una de las medias es diferente*

Se rechaza la hipótesis nula si $F > F_{J-1, I-J}$ y se acepta la hipótesis alterna, donde $F > F_{J-1, I-J}$ es el valor tabulado en la distribución F de Fisher-Snedecor.

El análisis de varianza de una vía, únicamente sirve para saber si por lo menos alguna de las medias es diferente; pero no cuáles son iguales entre ellas o cuáles no lo son. Por lo tanto generalmente después de un análisis de varianza de una vía se recurre a una prueba post hoc; post hoc es una expresión latina que significa "después del evento". Sirve para diferenciar cuáles son las medias iguales y cuáles son las medias diferentes, toda vez que ha concluido un análisis de varianza de una vía con el rechazo de la hipótesis nula y con la aceptación de la hipótesis alterna. La prueba post hoc más ampliamente utilizada es la de Tukey, que también se explica en este apartado.

Tabla 41. ANOVA o ANADEVVA de una vía

Ecuaciones	Literales
$SS_{Tratamientos} = \sum_{j=1}^J (I_j(m_j - m)^2)$	m_j =media de las observaciones del tratamiento j-ésimo
$SS_{Error} = \sum_{j=1}^J (I_j - 1)S_j^2$	m =media de todas las observaciones de todos los tratamientos
$SS_{Total} = \sum_{j=1}^J \sum_{i=1}^{I_j} (y_{ij} - m)^2$	S_j^2 =varianza de las observaciones del tratamiento j-ésimo
$DF_{Tratamientos} = J - 1$	I_j =número total de observaciones en el tratamiento j-ésimo
$DF_{Error} = I - J$	y_{ij} =i-ésima observación del j-ésimo tratamiento
$DF_{Total} = I - 1$	J =número total de tratamientos
$MS_{Tratamientos} = \frac{SS_{Tratamientos}}{DF_{Tratamientos}}$	I =número total de observaciones
$MS_{Error} = \frac{SS_{Error}}{DF_{Error}}$	Nota: En la notación de las ecuaciones para el cálculo de los valores para el análisis de varianza se utilizan las abreviaturas SS, DF y MS que provienen de la lengua Inglesa y significan respectivamente Suma de Cuadrados (<i>Sum of Squares</i>), Grados de Libertad (<i>Degrees of Freedom</i>) y Cuadrados Medios (<i>Medium Squares</i>).
$F = \frac{MS_{Tratamientos}}{MS_{Error}}$	
Fuente: (Hines & Montgomery, 2013)	

La prueba de Tukey se realiza de la siguiente manera: primero es preciso hacer una tabla con cada uno de los nombres de los tratamientos enlistados en las columnas de la tabla y cruzarlas con los mismos tratamientos enlistados en las filas de la tabla; de tal forma que todas las combinaciones posibles entre tratamientos cuenten con una celda en la tabla. Obviamente existirán celdas duplicadas para las combinaciones posibles, por lo tanto será necesario cancelar todas aquellas celdas duplicadas para que quede únicamente una celda disponible por combinación.

Una vez hecha esta tabla se procederá a realizar la prueba de Tukey, calculando la diferencia en la media de cada una de las combinaciones posibles con las siguientes fórmulas.

Tabla 42. Prueba de Tukey

Ecuaciones	Literales
$q = \frac{y_{max} - y_{min}}{\sqrt{2} \sqrt{MS_{Error}/n}}$ $T_{\alpha} = q_{\alpha, f} * \sqrt{2} \sqrt{MS_{Error}/n}$	<p>y_{max}=media máxima de las dos que están siendo comparadas</p> <p>y_{min}=media mínima de las dos que están siendo comparadas</p> <p>MS_{Error}=cuadrados medios del error, valor obtenido en el cálculo del análisis de varianza de una vía</p> <p>$q_{\alpha, f}$=valor tabulado de puntos porcentuales de la estadística de rango estudentizado con a (número de tratamientos) y f (grados de libertad del error) grados de libertad.</p> <p>n=número de observaciones en cada tratamiento</p>
<p>Fuente: (Hines & Montgomery, 2013)</p>	

Si la diferencia de las medias calculada para una combinación de tratamientos es menor al valor T_{α} calculado las medias de esos tratamientos serán consideradas iguales; de lo contrario se considerará que son diferentes. Al finalizar la prueba de Tukey se podrá saber cuáles medias son iguales entre sí y cuáles medias son diferentes.

Prueba TOST (Two-One Sided Test) de Schuirmann: La prueba TOST de Schuirmann es una alternativa a la prueba t para dos muestras que sirve para hacer una comparación de medias de dos grupos. Fue diseñada específicamente para la evaluación de bioequivalencia de productos farmacéuticos, sin embargo de manera reciente se ha expandido a muchas otras aplicaciones como son: farmacéutica en general, ingeniería de procesos, psicología, medicina, química y ciencias ambientales. (Limentani, Ringo, Ye, Bergquist, & McSorley, Junio 2005)

A diferencia de una prueba t para dos muestras, TOST penaliza la precisión pobre o los valores bajos de n ; y transfiere el peso de la prueba a una correcta selección del valor θ . (Limentani, Ringo, Ye, Bergquist, & McSorley, Junio 2005)

Esta prueba sirve para demostrar equivalencia entre dos grupos; esta equivalencia se refiere a la demostración estadística de que la diferencia entre las medias de dos grupos se encuentra por debajo de un límite aceptable (θ) a cierto nivel de

confianza. Es similar a la prueba t de dos muestras en que también sigue la distribución de probabilidad t.

Como dicha diferencia puede ser negativa o positiva, el límite se establece como un intervalo de confianza definido como el intervalo numérico comprendido entre el valor del límite con signo negativo y con signo positivo $[-\theta, \theta]$. En ambos extremos el límite es de la misma magnitud, y el centro del intervalo de confianza está en el 0 que representaría una igualdad aritmética de las medias de ambos grupos.

En esta prueba a diferencia de las otras pruebas de estadística paramétrica para comparación de medias se busca desechar la hipótesis nula y aceptar la hipótesis alterna; otra diferencia significativa es que en esta prueba cada una de las hipótesis se compone de dos sub hipótesis unidas por los operadores lógicos “Y” u “O”.

A continuación se detallan las ecuaciones y variables para la realización de la prueba, se detallan también las hipótesis que se desea probar o descartar:

Hipótesis nula: $H_{01}: \mu_X - \mu_Y \leq \theta_L$ o $H_{02}: \mu_X - \mu_Y \geq \theta_U$

Hipótesis alterna: $H_{A1}: \mu_X - \mu_Y > \theta_L$ y $H_{A2}: \mu_X - \mu_Y < \theta_U$

La hipótesis nula se rechaza si el intervalo de confianza calculado está dentro del intervalo $[-\theta, \theta]$ y se acepta la hipótesis alterna, es importante notar que en esta prueba se busca rechazar la hipótesis nula para demostrar equivalencia.

Tabla 43. Prueba Two-One Sided test de Schuirmann

Ecuaciones	Literales
$T_L = \frac{(\bar{x} - \bar{y}) - \theta_L}{S_p * \sqrt{\left(\frac{1}{n_x} + \frac{1}{n_y}\right)}}$	n_x =tamaño del grupo x n_y =tamaño del grupo y \bar{x} =promedio del grupo x \bar{y} =promedio del grupo y S_x^2 =varianza del grupo x S_y^2 =varianza del grupo y S_x =desviación estándar del grupo x S_y = desviación estándar del grupo y ν =grados de libertad $t_{(1-\alpha, n_x+n_y-2)}$ =valor t con significancia 1- α y n_x+n_y-2 grados de libertad θ_L =límite inferior del intervalo de confianza θ_U =límite superior del intervalo de confianza
$T_U = \frac{(\bar{x} - \bar{y}) - \theta_U}{S_p * \sqrt{\left(\frac{1}{n_x} + \frac{1}{n_y}\right)}}$	
$S_p = \frac{(n_x - 1)S_x + (n_y - 1)S_y}{n_x + n_y - 2}$ $= \sqrt{\frac{(n_x - 1)S_x^2 + (n_y - 1)S_y^2}{(n_x - 1) + (n_y - 1)}}$	
$S_p^2 = \frac{(n_x - 1)S_x^2 + (n_y - 1)S_y^2}{n_x + n_y - 2}$	
$\nu = n_x + n_y - 2$	
$(\bar{x} - \bar{y}) \pm t_{(1-\alpha, n_x+n_y-2)} * \sqrt{S_p^2 * \left(\frac{1}{n_x} + \frac{1}{n_y}\right)}$	
$(\bar{x} - \bar{y}) \pm t_{(0.10, n_x+n_y-2)} * S_p * \sqrt{\left(\frac{1}{n_x} + \frac{1}{n_y}\right)}$	
Fuentes: (Chambers, y otros, Septiembre 2005), (Limentani, Ringo, Ye, Bergquist, & McSorley, Junio 2005) , (Lung, Gorko, Llewelyn, & Wiggins, Noviembre-Diciembre 2003) y (Schuirmann, 1987)	

Al calcular el intervalo de confianza en la prueba TOST, entre más amplio sea este intervalo más probabilidades existen de fallar la prueba. El intervalo de confianza está en función de la diferencia aritmética entre las medias, el valor $t_{1-\alpha/2, N-2}$, la desviación estándar o la varianza ponderadas y el inverso de la población.

La prueba TOST de Schuirmann es más apropiada que una prueba t para dos muestras para buscar equivalencia entre grupos durante un estudio de transferencia analítica; debido a que penaliza las dispersiones altas y favorece los grupos de mayor número de muestras.

La razón por la cual el intervalo de confianza es $(1-2\alpha)*100\%$ y no calculado como el usual intervalo de confianza $(1-\alpha)*100\%$ es debido a que una prueba TOST equivale a dos pruebas simultáneas de una cola (*one-sided tests*). (Walker & Nowacki, 2010)

Prueba TOST-P (Paired Two-One Sided Test) para muestras pareadas: Se trata de una prueba estadística que busca mostrar equivalencia; puede ser utilizada cuando se cuenta con dos muestras con igual número de datos y dichos datos están pareados; de tal forma que un dato de la primer muestra guarda una relación con un dato de la segunda muestra. En este caso en particular se puede tomar como ejemplo tener los resultados analíticos de dos laboratorios para varios lotes del mismo producto.

Tabla 44. Prueba TOST por pares

Ecuaciones	Literales
$T_L = \frac{(\bar{x} - \bar{y}) - \theta_L}{\frac{S_{dif}}{\sqrt{n}}}$	n =tamaño de cada grupo \bar{x} =promedio del grupo x \bar{y} =promedio del grupo y S_{dif} =desviación estándar de las diferencias ν =grados de libertad θ_L =límite inferior del intervalo de confianza θ_U =límite superior del intervalo de confianza
$T_U = \frac{(\bar{x} - \bar{y}) - \theta_U}{\frac{S_{dif}}{\sqrt{n}}}$	
$\nu = n - 1$	
$(\bar{x} - \bar{y}) \pm t_{(1-2\alpha, n-1)} * \frac{S_{dif}}{\sqrt{n}}$	
Fuente: (Mara & Cribbie, 2012)	

Prueba de Levene: La prueba de Levene se utiliza para saber si las varianzas de dos o más grupos son iguales o para descartar esta hipótesis. En este caso sirve para saber si la dispersión en los resultados analíticos del laboratorio de referencia es igual a la dispersión en los resultados analíticos de los laboratorios receptores. Esta prueba sería la primera opción para analizar la varianza ya que no es sensible a la normalidad o anormalidad de los datos (NIST, 2017). Para la prueba de Levene se pueden utilizar la media o la mediana como medidas de tendencia central proporcionando resultados diferentes en cada caso.

Las hipótesis y el estadístico de prueba (W) son los que se describen a continuación:

Hipótesis nula: $S_x^2 = S_y^2$

Hipótesis alterna: $S_x^2 \neq S_y^2$

La hipótesis nula se rechaza si $W > F_{\alpha, k-1, N-k}$, y se acepta la hipótesis alterna; donde $F_{\alpha, k-1, N-k}$ es el valor tabulado en la distribución F.

Tabla 45. Prueba de Levene

Ecuaciones	Literales
$W = \frac{(N - k) \sum_{i=1}^k N_i * (\bar{Z}_{i.} - \bar{Z}_{..})^2}{(k - 1) * \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{N_i} (Z_{ij} - \bar{Z}_{i.})^2}$ $Z_{ij} = Y_{ij} - \bar{Y}_i $	$\bar{Z}_{i.}$ =media de Z_{ij} del grupo i. $\bar{Z}_{..}$ =media total de Z_{ij} Y_{ij} =dato j del grupo i \bar{Y}_i =media o mediana del grupo i N_i =tamaño del grupo i N = tamaño total de todos los grupos k =número de grupos
Fuente: (NIST, 2017)	

Prueba de Bartlett: La prueba de Bartlett es una prueba para igualdad de varianzas diseñada específicamente para comparar las varianzas de dos o más grupos que siguen una distribución normal.

Esta prueba en particular es muy sensible si los datos no siguen una distribución normal por lo tanto no se considera muy robusta. (Borkowski, 2017). La prueba de Bartlett es recomendada solo si los datos siguen una distribución normal, si se trata de muestras pequeñas con el mismo número de datos cada una se recomienda la prueba de Levene en su lugar ya que es robusta incluso si los datos no siguen una distribución normal. (Vorapongsathorn, Taejaroenkul, & Viwatwongkasem, 2004)

A continuación se muestran las hipótesis y el cálculo del estadístico de prueba:

Hipótesis nula: $S_x^2 = S_y^2$

Hipótesis alterna: $S_x^2 \neq S_y^2$

Se acepta la hipótesis nula y se desecha la hipótesis alterna si $T > \chi^2_{1-\alpha, k-1}$

Tabla 46. Prueba de Bartlett

Ecuaciones	Literales
$T = \frac{(N - k) \ln(S_p^2) - \sum_{i=1}^k (n_i - 1) \ln(S_i^2)}{1 + \frac{1}{3(k-1)} \sum_{i=1}^k \left(\frac{1}{n_i - 1} \right) - \frac{1}{N - k}}$ $S_p^2 = \frac{(n_x - 1)S_x^2 + (n_y - 1)S_y^2}{n_x + n_y - 2}$	S_i^2 =varianza del grupo i n_i =Tamaño del grupo i N =Suma del tamaño de todos los grupos k =Número de grupos
Fuente: (NIST, 2017)	

Prueba F de igualdad de varianzas: Esta prueba tiene la ventaja de ser muy sencilla de calcular e interpretar y la desventaja de solo servir para la comparación de dos grupos. Simplemente el estadístico de prueba se trata del cociente de la varianza de un grupo sobre la varianza del otro y la comparación de este estadístico de prueba contra las tablas de la distribución F.

Hipótesis nula: $S_x^2 = S_y^2$

Hipótesis alterna: $S_x^2 \neq S_y^2$

Se acepta la hipótesis nula y se desecha la hipótesis alterna si $F > F_{1-\alpha/2, N_x-1, N_y-1}$ o si $F < 1/(F_{1-\alpha/2, N_x-1, N_y-1})$.

Tabla 47. Prueba F de igualdad de varianzas

Ecuaciones	Literales
$F = \frac{S_x^2}{S_y^2}$	S_x^2 =varianza del grupo x S_y^2 =varianza del grupo y
Fuente: (NIST, 2017)	

Factores f1 y f2: Estas pruebas sirven únicamente para comparar perfiles de disolución, debe existir más de un tiempo de muestreo para que la realización de esta prueba tenga sentido. Normalmente es utilizada para evaluar la bioequivalencia de un medicamento genérico al ser comparado con un medicamento innovador. La forma de calcular es la siguiente:

Tabla 48. Factores f1 y f2 de similitud de perfiles de disolución

Ecuaciones	Literales
$f_2 = 50 * \log \left\{ \left[1 + \left(\frac{1}{n} \right) \sum_{t=1}^n (R_T - P_T)^2 \right]^{-0.5} * 100 \right\}$	n =número de tiempos de muestreo R_T =Porcentaje disuelto en la referencia al tiempo T
$f_1 = \frac{\sum_{t=1}^n R_T - P_T }{\sum_{t=1}^n R_T} * 100$	P_T = Porcentaje disuelto en la prueba al tiempo T
Fuentes: (Cook, de Anda, Rubio, & Mayet, Agosto 2012), (Stuart, y otros, Febrero 2015) y (Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Agosto 1997)	

Intervalo de Tolerancia de Expectativa Beta: Esta prueba estadística, también llamada β ETI por sus siglas en inglés (Beta-expectation Tolerance Interval) también puede utilizarse para evaluar el resultado de transferencias analíticas mediante la construcción de gráficas denominadas perfiles de exactitud a diferentes concentraciones.

Para entender el concepto de intervalo de tolerancia podemos referirnos a la explicación que da el NIST respecto a la diferencia entre el concepto de intervalo de tolerancia y el concepto de intervalo de confianza que es más común y más

ampliamente comprendido. Los intervalos de confianza son rangos numéricos dentro de los cuales esperamos que un parámetro de la población como la media esté contenido; mientras que los intervalos de tolerancia son rangos numéricos dentro de los cuales esperamos que una proporción de la población esté contenida. (NIST, 2017).

Para calcular el intervalo beta de tolerancia se requiere realizar una prueba de precisión intermedia donde se analicen múltiples muestras durante más de dos corridas independientes en días diferentes. Se debe presentar la varianza inter día entre muestras de una misma corrida y la varianza entre días, es decir entre varias corridas.

Además se requiere tener una medida del sesgo entendido como la diferencia entre el valor real y el valor obtenido; este puede ser evaluado mediante pruebas de recobro y se puede expresar como una diferencia absoluta, como una diferencia relativa o como un porcentaje de recobro. Se deben utilizar las siguientes ecuaciones para calcular el intervalo beta de tolerancia:

Tabla 49. Intervalo de tolerancia de expectativa beta

Ecuaciones	Literales
$\beta ETI = sesgo(\%) \pm k * RSD_{IP}$ $RSD_{IP} = 100 * \frac{\sqrt{\hat{\sigma}_B^2 + \hat{\sigma}_W^2}}{\mu}$ $R = \hat{\sigma}_B^2 / \hat{\sigma}_W^2$ $k = Q_1 \left(v, \frac{1 + \beta}{2} \right) \sqrt{1 + \frac{n\hat{\sigma}_B^2 + \hat{\sigma}_W^2}{pn(\hat{\sigma}_B^2 + \hat{\sigma}_W^2)}}$ $v = \frac{(R + 1)^2}{\frac{(R + 1/n)^2}{p - 1} + \frac{1 - 1/n}{pn}}$	$\hat{\sigma}_B^2$ =varianza entre series $\hat{\sigma}_W^2$ =varianza dentro de las series β =porcentaje de la población que se desea cubrir p =número de series k =factor de cobertura n =número de repeticiones por serie $Q_1 = \beta$ cuantil del de la distribución de Student v =grados de libertad estimados mediante la aproximación de Satterthwaite
Fuentes: (Cummings, Zhou, & Dive, 2011) y (Amod, y otros, 2011)	

Este análisis sirve para evaluar los resultados de transferencias analíticas mediante la prueba de precisión analítica y también para evaluar resultados de validaciones analíticas en la prueba de precisión intermedia.

Para limitar la diferencia entre el valor medio obtenido por un laboratorio y el valor aceptado como real existe el concepto de límite de aceptabilidad. El concepto puede expresarse matemáticamente de la siguiente forma:

$$|Z - \hat{Z}| < \lambda$$

Donde Z es la media del resultado analítico y \hat{Z} es el valor “real” de la magnitud medida. González y Herrador (González & Herrador, *Accurcay profiles from uncertainty measurements*, 2006) proponen límites de aceptabilidad que dependen del propósito del método analítico: 1% para materias primas, 5% para determinación de ingredientes activos en formas farmacéuticas. Si se valida un método analítico aplicando los principios descritos anteriormente se cumple el precepto del intervalo de tolerancia de la expectativa beta:

$$P(|Z - \hat{Z}| < \lambda) \geq \beta$$

Que en texto significa que la probabilidad de que la diferencia entre el valor obtenido analíticamente y el valor real sea menor al límite de aceptabilidad es mayor a β .

González y Herrador incluyen en su artículo un ejemplo del cálculo de intervalos de tolerancia de expectativa beta en un análisis de quinina por espectroscopía de fluorescencia en agua tónica. El ensayo fue realizado en cinco días diferentes, realizando tres réplicas por día en tres diferentes concentraciones 66 mg/L, 83 mg/L y 100 mg/L. Los resultados obtenidos se presentan a continuación:

Tabla 50. Resultados de concentración de quinina en agua tónica (ejemplo β -ETI)

66.00 mg/L					83.00 mg/L					100.00 mg/L				
Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
65.33	66.81	67.44	65.72	66.61	84.49	82.83	82.65	82.30	83.74	100.25	101.36	99.98	98.84	99.60
65.38	66.79	67.48	65.70	66.36	84.53	82.77	82.70	82.51	83.82	100.20	101.44	100.02	98.93	99.77
65.22	66.72	67.48	65.88	66.70	84.60	82.92	82.56	82.48	83.65	100.32	101.50	99.87	98.75	99.82

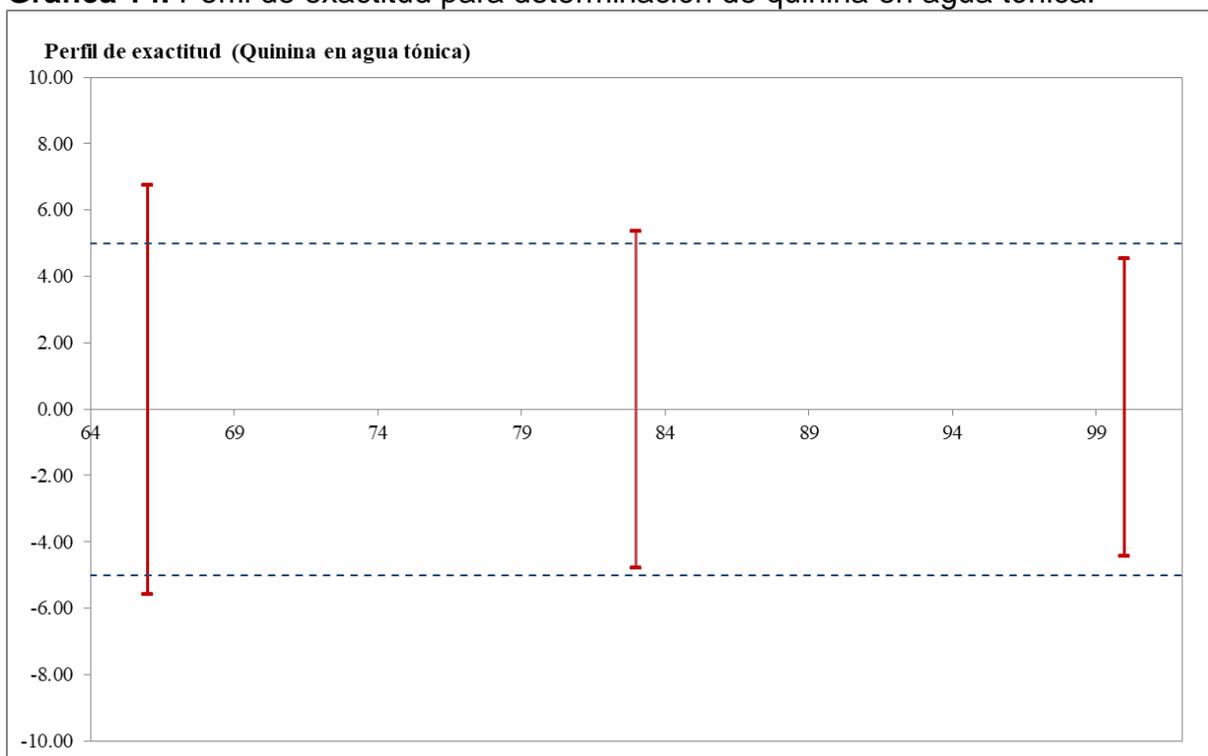
El promedio obtenido analíticamente de concentración de la solución de 66.00 mg/L es de 66.37 mg/L y el sesgo en diferencia absoluta es de 0.37 mg/L. y el sesgo es de 0.24 mg/L en la concentración de 83.00 mg/L y de 0.01 mg/L en la concentración de 100.00 mg/L. Los resultados obtenidos se resumen en la siguiente tabla, (obtenidos aplicando las ecuaciones de la tabla anterior).

Tabla 51. Resultados del ejemplo de cálculo de β -ETI

Concentración	RSD _{IP}	k	v (Satterthwaite)	LIIT	LSIT
66.00 mg/L	1.21%	5.1	4	-5.959%	6.731%
83.00 mg/L	0.99%	5.1	4	-4.782%	5.352%
100.00 mg/L	0.88%	5.1	4	-4.431%	4.518%

Por lo tanto el perfil de exactitud con un valor de aceptabilidad (λ) de $\pm 5\%$ se vería de la siguiente manera:

Gráfica 14. Perfil de exactitud para determinación de quinina en agua tónica.



Como se puede observar, esta técnica se puede utilizar durante una prueba de transferencia analítica; realizando un diseño experimental de tipo precisión intermedia y fijando valores de aceptabilidad en el protocolo; aun cuando no se realice un perfil de exactitud.

Análisis de regresión lineal: El análisis de regresión lineal se realiza en diversas ramas de la ciencia, normalmente en las validaciones de métodos analíticos farmacéuticos se hace un análisis de este tipo durante la prueba de linealidad. Sin embargo reviste particular importancia en la validación de los métodos analíticos de impurezas ya que con la pendiente de la recta calculada se pueden obtener los límites de detección y cuantificación de impurezas.

Durante una transferencia analítica de un laboratorio hacia otro es importante demostrar que el laboratorio que recibe tiene al menos la misma capacidad de detectar y cuantificar impurezas en un producto farmacéutico que el laboratorio de referencia. La regulación brasileña RDC No. 899 exige evaluar la linealidad como parte del estudio de transferencia analítica.

Para realizar el análisis de regresión se debe haber preparado una serie de muestras adicionadas con el analito en diversas concentraciones conocidas y con las respuestas obtenidas realizar un análisis de regresión. La respuesta analítica obtenida (áreas o alturas de picos en un análisis cromatográfico) se considerará la variable dependiente (Y) y la concentración adicionada se considerará la variable independiente (X). Las ecuaciones a utilizar son las siguientes, incluyendo el cálculo de los intervalos de confianza de la pendiente y del intercepto.

Tabla 52. Análisis de regresión lineal

Ecuaciones	Literales
$\hat{Y} = \beta_0 + \beta_1 X$ $\beta_0 = \frac{(\sum_{i=1}^n y_i)(\sum_{i=1}^n x_i^2) - (\sum_{i=1}^n x_i)(\sum_{i=1}^n x_i y_i)}{n(\sum_{i=1}^n x_i^2) - (\sum_{i=1}^n x_i)^2}$ $\beta_1 = \frac{n(\sum_{i=1}^n x_i y_i) - (\sum_{i=1}^n x_i)(\sum_{i=1}^n y_i)}{n(\sum_{i=1}^n x_i^2) - (\sum_{i=1}^n x_i)^2}$ $\beta_0 \pm t_{\alpha/2, n-2} * \sqrt{MSE} * \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{\bar{X}^2}{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}}$ $\beta_1 \pm t_{\alpha/2, n-2} * \frac{\sqrt{MSE}}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}}$ $\bar{X} = \frac{1}{n} * \sum_{i=1}^n X_i$ $MSE = \frac{\sum_{i=1}^n (Y_i - \hat{Y}_i)^2}{n - 2}$ $\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (Y_i - \hat{Y}_i)^2}{n - 1}}$ $LD = \frac{3.3\sigma}{\beta_1}$ $LD = \frac{10\sigma}{\beta_1}$	<p>X_i=Cada uno de los puntos en X</p> <p>Y_i=Cada uno de los puntos en Y</p> <p>n=número de puntos en la curva</p> <p>\hat{Y}_i=cada uno de los puntos Y calculados con la ecuación</p> <p>MSE=cuadrados medios del error</p> <p>LD=límite de detección</p> <p>LC=límite de cuantificación</p>
<p>Fuente: (ICH, 2005), (ICH/FDA, 1996)</p>	

Ecuación de Horwitz: Existe una ecuación empírica que sirve para limitar la dispersión de los resultados obtenidos en química analítica durante un estudio intra-laboratorio (Repetibilidad) o inter-laboratorio (Reproducibilidad); dicha ecuación se encuentra en función de la concentración del analito en la matriz.

Esta ecuación es una relación encontrada por Horwitz y propuesta en su artículo original de 1980. (González & Herrador, A practical guide to analytical method

validation, including measurement uncertainty and accuracy profiles, 2007) La ecuación es la siguiente:

$$RSD_R = 2^{(1-0.5*\log C)}$$

Que también puede ser expresada como:

$$RSD_R = 2C^{-0.15}$$

Donde C es la concentración del analito, expresada como la fracción adimensional en la cual el numerador y el denominador tienen las mismas unidades. (Rivera-Orozco & Rodríguez-Baez, 2010). Como se puede observar esta ecuación sirve para predecir el RSD de una determinación analítica independientemente del tipo de analito (siempre y cuando no se trate de biomoléculas) e independientemente del tipo de técnica analítica (siempre y cuando se trate de una técnica de determinación de concentración). Existe además un cociente conocido como Horrat (Proporción de Horwitz o *Horwitz ratio* por su nombre en inglés) para determinar si el RSD obtenido experimentalmente está de acuerdo con el RSD predicho por la ecuación de Horwitz o no. Si el coeficiente experimental es similar al predicho por la ecuación de Horwitz, se puede hablar de una buena repetibilidad y/o reproducibilidad según sea el caso; de lo contrario la repetibilidad o reproducibilidad del estudio en cuestión serían inaceptables.

$$Horrat = \frac{RSD_R}{PRSD_R}$$

En esta expresión RSD_R es el RSD obtenido experimentalmente y $PRSD_R$ es el RSD predicho mediante la ecuación de Horwitz. Generalmente un valor de Horrat aceptable fluctúa entre 0.5 y 2.

De acuerdo a la ecuación de Horwitz cuando el analito constituye el 100% de la muestra, el RSD predicho es de 2%; cuando el analito constituye el 1% de la muestra (0.01 en forma fraccionaria) el RSD predicho es de 8%. Conforme se va reduciendo la concentración del analito en la muestra va aumentando el RSD predicho por la ecuación de Horwitz. (Taverniers, De Loose, & Van Bockstaele, 2004). Si quisiéramos aplicar la ecuación de Horwitz en un estudio inter-laboratorio de análisis farmacéutico con una concentración de muestra de 0.1 mg/mL el RSD predicho sería de 8% y el RSD experimental aceptable iría de 4% a 16%.

Algunos organismos (Como la AOAC) han adoptado la ecuación de Horwitz como un estándar, sin embargo tiene algunos inconvenientes que han sido estudiados y documentados (Linsinger & Josephs, 2006). El modelo de Horwitz asume que no existe diferencia en tipo de analito, tipo de matriz y técnica analítica; cuando es natural que estos tengan una enorme influencia sobre la dispersión de los resultados analíticos. Desde un punto de vista metrológico la ecuación de Horwitz contradice los preceptos de la Guía para la Incertidumbre de Medida (GUM (Joint Committee for Guides in Metrology, 2008)).

La AOAC plantea una alternativa a la ecuación de Horwitz con valores mucho más conservadores en su documento PVM (*Peer Verified Methods*); para el mismo ejemplo un estudio inter-laboratorio de análisis farmacéutico con una concentración de muestra de 0.1 mg/mL el RSD aceptable sería de 5.3%. (AOAC, 2016). Por lo tanto no es conveniente utilizar la ecuación de Horwitz como un criterio de aceptación en un estudio inter-laboratorio de análisis farmacéutico.

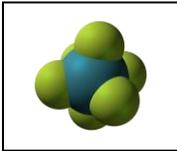
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT). (2010). *Disposición No 5469*. Argentina.
- Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria (ANVISA). (16 de abril de 2010). *Resolución del Directorio Colegiado No. 17*. Brasil.
- Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria (ANVISA). (29 de mayo de 2003). *Resolución No. 899*. Brasil.
- Ahuja, S., & Scypinski, S. (2001). *Handbook of Modern Pharmaceutical Analysis*. San Diego, CA, Estados Unidos de América: Academic Press.
- Amood, M., Kamarany, A., Karbane, M., Ridouan, K., Alanazi, F., Hubert, P., . . . Bouklouze, A. (2011). Transfer of drug dissolution testing. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 20(1)93:101.
- Analytical Methods Committee. (2013). Experimental design and optimisation (4):Plackett-Burman designs. *Analytical methods*, 5(1)1901:1903.
- Anderson, J., Betthod, A., Pino-Estévez, V., & Stalcup, A. (2015). *Analytical Separation Science*. Weinheim, Alemania: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- Anglov, T., Byrialsen, K., Carstensen, J., Christensen, F., & Stjernholm, B. (2003). Uncertainty budget for final assay of a pharmaceutical product based on RP-HPLC. *Accreditation and Quality Assurance*, 8:225-230.
- AOAC. (2016). *AOAC Official Methods of Analysis*. Estados Unidos de América.
- Blessy, M., Patel, R., Prajapati, P., & Agrawal, Y. (2014). Development of forced degradation and stability indicating studies of drugs -- A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 4(3)159:165.
- Borkowski, J. (12 de Febrero de 2017). *2.12 Tests for Homogeneity of Variance*. Obtenido de Montana State University: <http://www.math.montana.edu/jobost541/sec2e.pdf>
- Center for Drug Evaluation and Research (CDER). (Agosto 1997). *Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms*. Rockville: FDA.
- Chalmer, B. J. (1987). *Understanding Statistics*. Montpelier: Marcel Dekker Inc.
- Chambers, D., Kelly, G., Limentani, G., Lister, A., Lung, R., & Warner, E. (Septiembre 2005). Analytical Method Equivalency, An Acceptable Analytical Practice . *Pharmaceutical Technology*, 64-80.
- COFEPRIS. (16 de Julio de 2016). *COFEPRIS*. Obtenido de <http://www.cofepris.gob.mx/Documents/NotasPrincipales/08012015.pdf>
- Cook, H., de Anda, G., Rubio, K., & Mayet, L. (Agosto 2012). Comparación de perfiles de disolución. Impacto de los criterios de diferentes agencias regulatorias en el cálculo de f2. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 43(3) 67-71.
- Cuadros, L. (2013). *Glosario de términos analíticos*. Córdoba: Grupo Regional Andaluz de la Sociedad Española de Química Analítica.
- Cummings, J., Zhou, C., & Dive, C. (2011). Application of the β -expectation tolerance interval to method validation of the M30 and M65 ELISA cell death biomarker assay. *Journal of Chromatography B*, 879(1)887:893.
- De Bievre, P., & Günzler, H. (2005). *Validation in Chemical Measurement*. Berlin-Heidelberg: Springer.
- De Fontenay, G. (2007). Analytical method transfer: New descriptive approach for acceptance criteria definition. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 46(1)104:112.

- DeStefano, A. J. (22 de Octubre de 2016). *usp.org*. Obtenido de *usp.org*:
http://www.usp.org/sites/default/files/events/stakeholder_forums/2012/meeting-1/4c-usp-general-chapters-overview-2012-11-09.pdf
- Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas (DIGEMID). (1999). *Resolución Ministerial No. 055-99.SA/DM "Manual de Buenas Prácticas de Manufactura de Productos Farmacéuticos"*. Perú.
- EURACHEM/CITAC. (2012). *Guía CG4: Cuantificación de la Incertidumbre en Medidas Analíticas 3ra Edición*. España: Co-Operation on International Traceability in Analytical Chemistry.
- EUROPEAN COMMISSION HEALTH AND CONSUMERS DIRECTORATE-GENERAL. (28 de marzo de 2014). *EU Guidelines fo Good Manufacturing Practice for medicinal Products for Human and Veterinary Use*. Bruselas.
- Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos 11a Edición. (2014). *Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos 11a Edición*. Ciudad de México: CPFEUM.
- Food and Drug Administration. (17 de septiembre de 2015). *§21 CFR 21 Code of Federal Regulations Part 211 "Current Good Manufacturing Practice for Finished Pharmaceuticals"*. Estados Unidos de América.
- Food and Drug Administration. (29 de agosto de 2014). *APPENDIX 1 – ORA Validation and Verification Guidance for Human Drug Analytical Methods*. Estados Unidos de América.
- Food and Drug Administration. (Enero 2003). *Q1D Bracketing and Matrixing: Designs for Stability Testing of New Drugs Substances and Products*. Estados Unidos de América.
- García Correa, Ó. (2015). *Industria farmacéutica: unidad de inteligencia de negocio*. Ciudad de México: Secretaría de Economía.
- González, A., & Herrador, M. (2006). Accurcay profiles from uncertainty measurements. *Talanta*, 70(1)896:901.
- González, A., & Herrador, M. (2007). A practical guide to analytical method validation, including measurement uncertainty and accuracy profiles. *Trends in Analytical Chemistry*, 26(3)227:238.
- Health Canada. (3 de abril de 2016). *Food and Drug Regulations C.02.001*. Canadá.
- Hines, W., & Montgomery, D. (2013). *Probabilidad y estadística para ingeniería*. México: Grupo Editorial Patria.
- Huizing, M., Sparreboom, A., Rosing, H., Van Tellingen, O., Pinedo, H., & Beijnen, J. (1995). Quantification of paclitaxel metabolites in human plasma by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B: Biomedical Applications*, (674)261:268.
- ICH. (2005). *Q2(R1)*. ICH.
- ICH/FDA. (1996). *ICH Q2B Validation of Analytical Procedures: Methodology*. Rockville, MD: FDA.
- International Society of Pharmaceutical Engineering. (2003). *Technology Transfer, Section 3, pp.(26)*. Estados Unidos de América: ISPE.
- Joint Committee for Guides in Metrology. (2008). *Evaluation of measurement data - Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM 1995 with minor corrections)*. París: Bureau International des Poids et Mesures.
- Kirschbaum, J. (1989). Inter-laboratory transfer of HPLC methods: problems and solutions. *Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis*, 7(7)813-833.
- Konieczka, P., & Namiesnik, J. (2009). Estimating uncertainty in analytical procedures based on chromatographic techniques. *Journal of Chromatography A*, 1217(2010)882:891.
- Landau, D., & Binder, K. (2009). *A Guide to Monte-Carlo Simulations in Statistical Physics 3era Edición*. Cambridge: Cambridge University Press.

- Limentani, G., Ringo, M., Ye, F., Bergquist, M., & McSorley, E. (Junio 2005). Beyond the t-test: Statistical Equivalence Testing. *Analytical Chemistry*, 77 (11) 221 A-226 A.
- Linsinger, T., & Josephs, R. (2006). Limitations of the application of the Horwitz equation. *Trends in Analytical Chemistry*, 25(11)1125:1130.
- Lourenço, F., Ghisleni, D., Yamamoto, R., & Andreoli, T. (2013). Comparison of dissolution profile of extended-release oral dosage forms - Two one-sided equivalence test. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 49(2)367:361.
- Lung, R., Gorko, M., Llewelyn, J., & Wiggins, N. (Noviembre-Diciembre 2003). Statistical method for the determination of equivalence of automated test procedures. *Journal of Automated Methods & Management in Chemistry*, 25(6)123-127.
- Lyrio-Traple, M., Saviano, A., Francisco, F., & Lourenço, F. (2014). Measurement uncertainty in pharmaceutical analysis and its application. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 4(1)1:5.
- Ma, M., Lin, R., & Liu, J. (1999). Statistical evaluations of dissolution similarity. *Statistica Sinica*, 9(1)1011:1027.
- Majors, R., & Przybyciel, M. (Julio 2002). Columns for Reversed-Phase LC Separations in Highly Aqueous Mobile Phase. *LCGC North America*, 20(7)584:593.
- Mara, C., & Cribbie, R. (2012). Paired-Samples Tests of Equivalence. *Communications in Statistics-Simulation and Computation*, 41:1928-1943.
- Medicines and Healthcare products Regulatory Agency. (2015). "Rules and Guidance Pharmaceutical Manufacturers and Distributors" Orange Guide. Reino Unido.
- Miller, J., & Miller, J. (2010). *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry 6a Edición*. Harlow: Pearson.
- Ngwa, G. (Junio 2010). Forced Degradation as an Integral Part of HPLC Stability-Indicating Method Development. *Drug Delivery Technology*, 10(5).
- Nickerson, B. (2011). *Sample Preparation of Pharmaceutical Dosage Forms*. Groton, CT, Estados Unidos de América: Springer.
- NIST. (29 de Enero de 2017). 1.3.5.10. *Levene Test for Equality of Variances*. Obtenido de Engineering Statistics Handbook: <http://www.itl.nist.gov/div898/handbook/eda/section3/eda35a.htm>
- NIST. (12 de Febrero de 2017). 1.3.5.9. *F-Test for Equality of Two Variances*. Obtenido de Engineering Statistics Handbook: <http://www.itl.nist.gov/div898/handbook/eda/section3/eda359.htm>
- NIST. (29 de Enero de 2017). 2.5.7.1. *Degrees of Freedom*. Obtenido de Engineering Statistics Handbook: <http://www.itl.nist.gov/div898/handbook/mpc/section5/mpc571.htm>
- NIST. (2 de Julio de 2017). 5.3.3.5. *Plackett-Burman designs*. Obtenido de Engineering Statistics Handbook: <http://www.itl.nist.gov/div898/handbook/pri/section3/pri335.htm>
- NIST. (10 de Junio de 2017). 7.2.6.3. *Tolerance intervals for a normal distribution*. Obtenido de Engineering Statistics Handbook: <http://www.itl.nist.gov/div898/handbook/prc/section2/prc263.htm>
- NOM-059-SSA1. (2015). *Buenas prácticas de fabricación de medicamentos*. Ciudad de México: SSA.
- NOM-073-SSA1. (2015). *Estabilidad de fármacos y medicamentos, así como de remedios herbolarios*. Ciudad de México: SSA.
- NOM-177-SSA1. (2013). *Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Requisitos a que deben sujetarse los Terceros Autorizados que realicen las pruebas de intercambiabilidad*. Ciudad de México: SSA.

- Okamoto, R., Traple, F., & Lourenço, F. (2012). Uncertainty in the quantification of metronidazole in injectable solution and its application in the assessment of pharmaceutical equivalence. *Current Pharmaceutical Analysis*, 9(1)355:362.
- Pavan-Kumar, B., Mathrusri-Annapurna, M., & Pavani, S. (2013). Development and validation of a stability indicating RP-HPLC method for the determination of Rufinamide. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 3(1)66:70.
- Pérez Zazueta, G. (16 de Julio de 2016). *Mexico Investment Map*. Obtenido de http://mim.promexico.gob.mx/work/sites/mim/resources/LocalContent/368/2/130820_DS_Farmaceutica_ESP.pdf
- PIC/S Pharmaceutical Co-operation Scheme. (1 de octubre de 2015). *PE 009-12 "Guide to good manufacturing practice for medicinal products"*.
- Resolución No. 003619 "Manual de Buenas Prácticas de Laboratorio de Control de Calidad de Productos Farmacéuticos". (2013). Colombia: Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA).
- Rivera-Orozco, C., & Rodríguez-Baez, M. (2010). Uso de la ecuación de Horwitz en laboratorios de ensayos NMX-EC-17025-IMNC-2006. *Simposio de Metrología SM2010-S5C-3* (pág. 1:8). Ciudad de México: Centro Nacional de Metrología.
- Schuurmann, D. J. (1987). A Comparison of the Two One-Sided Tests Procedure and the Power Approach for Assessing the Equivalence of Average Bioavailability. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*, 15(6)657:680.
- Scypinski, S., Roberts, D., Oates, M., & Etse, J. (Marzo 2002). An acceptable analytical practice for analytical method transfer. *Pharmaceutical Technology*, 84-88.
- Sengül, Ü. (2016). Comparing determination methods of detection and quantification limits for aflatoxin analysis in hazelnut. *Journal of Food and Drug Analysis*, (24)56:62.
- Skoog, D. (2010). *Fundamentos de Química Analítica 8a Edición en Español*. Ciudad de México: Cengage Learning.
- Stuart, A., Clement, Y., Sealy, P., Löbenberg, R., Montane-Jaime, L., Maharaj, R., & Maxwell, A. (Febrero 2015). Comparing the Dissolution Profiles of Seven Metformin Formulations in Simulated Intestinal Fluid. *Dissolution Technologies*, 22(1)17:21.
- Taverniers, I., De Loose, M., & Van Bockstaele, E. (2004). Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance. *Trends in Analytical Chemistry*, 23(8)535:552.
- Torbeck, L. (2005). In defense of USP singlet testing. *Pharmaceutical Technology*, 105-106.
- USP 39a Edición. (2016). *United States Pharmacopeia 39th edition / National Formulary 34th edition*. Rockville, MD: U.S. Pharmacopeial Convention.
- Vorapongsathorn, T., Taejaroenkul, S., & Viwatwongkasem, C. (2004). A comparison of type I error and power of Bartlett's test, Levene's test and Cochran's test under violation of assumptions. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26(4) 537:547.
- Walker, E., & Nowacki, A. (2010). Understanding Equivalence and Noninferiority Testing. *Journal of General Internal Medicine*, 26(2)192-196.
- Waters. (2002). *Empower PDA Software "Getting Started Guide" 71500031503, Revisión A*. Milford, MA.
- Waters Corporation. (16 de Julio de 2017). *USP "L" Column Listing*. Obtenido de 23:03: https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/usp_col_listings.pdf
- World Health Organization. (2011). *WHO guidelines on transfer of technology in pharmaceutical manufacturing No. 961*. Génova: WHO Technical Report Series.



Transferencia de métodos analíticos de control de calidad

Procedimiento global normalizado de operación

Documento:	NNN01	Versión:	01
Fecha de efectividad:	10 de enero de 2017		
Fecha de revisión:	10 de enero de 2020		
Página 1 de 5			

OBJETIVO

El objetivo del presente procedimiento normalizado de operación es normar la realización de transferencias analíticas entre dos laboratorios independientes. Está diseñado para proveer un esquema general de protocolo de transferencia analítica, y una serie de reglas para seleccionar las pruebas y criterios de aceptación que permitan decidir si los resultados analíticos del laboratorio receptor son equivalentes a los resultados del laboratorio de desarrollo.

Mediante este documento se asegura que el protocolo y el reporte de transferencia analítica provean una base científica y estadística robusta para considerar que los resultados analíticos del laboratorio receptor son equivalentes a los resultados del laboratorio de desarrollo.

ALCANCE

- ▶ Todos los laboratorios fisicoquímicos de control de calidad y de investigación y desarrollo (R&D) dedicados al desarrollo de métodos analíticos.
- ▶ Todas las transferencias de métodos analíticos para materias primas, productos intermedios, a granel o productos terminados realizadas desde un laboratorio de investigación y desarrollo hacia un laboratorio de control de calidad. (Cualquier procedimiento de transferencia, adaptabilidad, entrenamiento, etc. de métodos analíticos compendiales queda fuera del alcance del presente procedimiento).
- ▶ Todas las divisiones de negocio farmacéuticas en Norte, Centro y Sudamérica, Europa y cualquier área geográfica bajo la jurisdicción de PIC/S, OMS (WHO) o ICH.

PRE-REQUISITOS

- ▶ La ejecución de la parte experimental de la transferencia debe estrictamente estar supeditada a la existencia de un protocolo aprobado por ambas partes (laboratorio receptor y laboratorio de desarrollo).
- ▶ El personal del laboratorio receptor deberá recibir un entrenamiento práctico en la ejecución del método analítico así como contar con experiencia suficiente en las actividades analíticas con la finalidad de que la inexperiencia del personal no sea un factor en el análisis de resultados.
- ▶ Toda desviación del protocolo aprobado será investigada y deberá contar con la documentación de acuerdo a los procedimientos del sistema de gestión de calidad.
- ▶ Ambos laboratorios deben seguir las Buenas Prácticas de Manufactura y de Laboratorio, específicamente en todo lo referente a documentación en papel y electrónica, para asegurar la integridad de los datos y por ende de los resultados.
- ▶ El laboratorio de desarrollo que transfiere el método deberá contar como pre-requisito indispensable con la validación del método a transferir. Esta deberá ser acorde a los requerimientos relevantes aplicables (Por ejemplo ICH Q2(R1), Analytical Procedures and Methods Validation for Drugs and Biologics, etc.). La validación del método deberá incluir una evaluación preliminar de la



Transferencia de métodos analíticos de control de calidad

Procedimiento global normalizado de operación

Documento:	NNN01	Versión:	01
Fecha de efectividad:	10 de enero de 2017		
Fecha de revisión:	10 de enero de 2020		
Página 2 de 5			

incertidumbre analítica asociada al método analítico en uso; este parámetro deberá ser considerado al evaluar la factibilidad de la selección de un criterio de aceptación. El laboratorio de desarrollo analítico deberá proveer al laboratorio receptor una copia del reporte de la validación del método. Si se considera cambiar algún parámetro analítico (por ejemplo la columna), el mismo deberá estar validado y documentado en la robustez del método.

- ▶ El laboratorio originador compartirá una base de datos de todos los insumos utilizados con el laboratorio receptor. Esta deberá detallar marcas, grados, números de parte (SKUs) de todos los reactivos, columnas, equipos, sustancias de referencias, etc. utilizados por el laboratorio originador en la validación del método analítico.
- ▶ Para transferencia de métodos analíticos indicativos de estabilidad; se deben aplicar las pruebas de degradación forzada que hayan resultado en degradaciones más exitosas durante la validación analítica. Si existen sustancias de referencia de impurezas y degradantes disponibles, se puede preparar una mezcla en vez de realizar una prueba de degradación forzada.
- ▶ Toda transferencia analítica que involucre al mercado brasileño deberá evaluar la linealidad (Al menos cinco puntos), la precisión (Desviación estándar relativa <5%) y la especificidad como parte del protocolo de la misma forma en que se evaluaron en la validación original del método.

DEFINICIONES Y SIGLAS

AV: Valor de aceptación en la prueba de uniformidad de contenido

ICH: Conferencia Internacional de Armonización.

OMS: Organización Mundial de la Salud

PIC/S: Pharmaceutical International Cooperation Scheme

RSD: Desviación estándar relativa

TOST: Two-One Sided Test

Transferencia analítica: Proceso mediante el cual un laboratorio es calificado en la ejecución de un método analítico de control de calidad, probando que los resultados experimentales son equivalentes a los obtenidos por el laboratorio originador del método.

Laboratorio de desarrollo: Laboratorio que ha desarrollado y validado un método analítico para la determinación de algún atributo de calidad de un producto o material farmacéutico.

Laboratorio receptor: Laboratorio de control de calidad que para aplicar un método analítico en operaciones rutinarias de liberación o estudios de estabilidad requiere demostrar que sus resultados son equivalentes a los del laboratorio de desarrollo.



Transferencia de métodos analíticos de control de calidad

Procedimiento global normalizado de operación

Documento:	NNN01	Versión:	01
Fecha de efectividad:	10 de enero de 2017		
Fecha de revisión:	10 de enero de 2020		

Página 3 de 5

ACTIVIDADES

ACTIVIDAD 1	Elaboración del protocolo
Responsable	Descripción de pasos
Laboratorio de desarrollo	<p>1.1 Escribir el protocolo de transferencia, de acuerdo a los lineamientos proporcionados en el presente procedimiento</p> <p>1.2 Transferir las pruebas analíticas que sean necesarias para la liberación rutinaria y durante los estudios de estabilidad. Las pruebas analíticas, diseños experimentales, pruebas estadísticas, niveles de confianza y criterios de aceptación deberán estar detalladas en el protocolo. El diseño experimental deberá estar basado en una matriz y considerar las variaciones típicas (Equipos, días, analistas, lotes, etc.). Utilizar un diseño de Plackett-Burman para realizar las combinaciones de factores. (Ver la Tabla provista al final del documento)</p> <p>1.2 Los métodos analíticos que se incluyan en el protocolo de transferencia se clasificarán de la siguiente manera (de acuerdo al tipo de prueba analítica):</p> <ol style="list-style-type: none"> Métodos cualitativos y/o semi-cuantitativos Métodos de uniformidad de dosis (por uniformidad de contenido)^[1] Métodos de ensayo de principio activo Métodos de disolución de un solo punto de muestreo Métodos para perfil de disolución, con múltiples puntos de muestreo Métodos para impurezas Métodos de ensayo de conservadores <p>Nota^[1]: En el caso de uniformidad de dosis por variación de peso no es necesario incluir la prueba en el protocolo, pero si explicar que intencionalmente se ha excluido.</p> <p>1.3 Definir si el laboratorio de origen, cuenta o no con información previa del proceso o del comportamiento del producto. Si se cuenta con información previa del comportamiento histórico del producto, esta deberá ser considerada en la elección de los criterios de aceptación.</p> <p>1.4 Evaluar mediante un reporte resumido la adecuabilidad de los métodos cromatográficos. Si los sistemas cromatográficos no cumplen con las pruebas de adecuabilidad del sistema cromatográfico no se podrán considerar válidos los resultados.</p> <p>1.5 Conducir y documentar el proceso de entrenamiento práctico con el personal designado del laboratorio receptor. Toda la documentación de entrenamiento constituirá un anexo del protocolo de transferencia.</p>
Laboratorio receptor	1.6 Revisar y aprobar el protocolo; someter a la aprobación de la unidad de aseguramiento de calidad (QA) del sitio receptor.

ACTIVIDAD 2	Ejecución del protocolo
Responsable	Descripción de pasos
Laboratorio receptor	<p>2.1 Realizar la ejecución experimental únicamente hasta que el protocolo haya recibido todas las firmas de aprobación en ambos laboratorios.</p> <p>2.2 Conducir los experimentos de acuerdo a lo descrito en el protocolo; y de acuerdo a los procedimientos locales aplicables.</p>



Transferencia de métodos analíticos de control de calidad

Procedimiento global normalizado de operación

Documento:	NNN01	Versión:	01
Fecha de efectividad:	10 de enero de 2017		
Fecha de revisión:	10 de enero de 2020		

Página 4 de 5

	<p>2.3 En caso de surgir alguna desviación al protocolo, un resultado inesperado, etc. o alguna complicación no planeada se deberá seguir el procedimiento local de desviaciones de calidad aplicable. Involucrar al laboratorio de desarrollo y a la unidad de aseguramiento de calidad en la revisión y aprobación del plan de acción derivado de dicha desviación.</p> <p>2.4 Obtener todos los resultados analíticos y procesarlos de acuerdo al tratamiento estadístico seleccionado en el protocolo.</p> <p>2.5 Emitir el dictamen de cada una de las pruebas definidas. En caso de obtener un resultado no conforme se deberá seguir el flujo de desviación descrito en el punto 2.3</p>
Laboratorio de desarrollo	2.6 Proveer soporte y seguimiento al laboratorio receptor durante toda la ejecución del protocolo.

ACTIVIDAD 3	
Responsable	Finalización del protocolo y emisión del reporte
	Descripción de pasos
Laboratorio de desarrollo	<p>3.1 Elaborar el reporte de la transferencia analítica cubriendo todas las pruebas descritas en el protocolo. Incluir en el reporte referencias a toda la documentación analítica generada.</p> <p>3.2 Realizar todos los cálculos requeridos, incluyendo todas las pruebas estadísticas necesarias. Adjuntar gráficos, espectros o cromatogramas si se considera necesario.</p> <p>3.3 Emitir una conclusión para cada una de las pruebas incluidas en el protocolo.</p>
Laboratorio receptor	<p>3.4 Someter el reporte a la aprobación del departamento local de aseguramiento de calidad (QA).</p> <p>3.5 Esperar el dictamen del laboratorio de desarrollo antes de utilizar el método para análisis rutinario. Esto en el entendido de que cuando el reporte haya recibido su última firma de aprobación, el laboratorio receptor se considerará oficialmente calificado para llevar a cabo el análisis en la operación rutinaria de liberación de producto al mercado o análisis de estabilidad.</p>



Transferencia de métodos analíticos de control de calidad

Procedimiento global normalizado de operación

Documento:	NNN01	Versión:	01
Fecha de efectividad:	10 de enero de 2017		
Fecha de revisión:	10 de enero de 2020		
Página 5 de 5			

Tabla de selección de pruebas y criterios de aceptación

Prueba analítica	Prueba estadística	Criterio de aceptación
Disolución (1 punto de muestreo)	TOST de Schuirmann	$\theta=5.0\%$
Perfil de disolución	Factor f2	$F2 \geq 65\%$
Uniformidad de contenido	TOST de Schuirmann	$\theta=\delta$ $\theta=3\%$ (Si no hay datos disponibles para calcular δ)
	Prueba F de igualdad de varianzas	Igualdad estadística de la dispersión. ^[2]
Impurezas	Análisis de regresión lineal	Ángulo de pureza del pico principal vs umbral de pureza (Prueba de degradación o adición de referencia de impurezas) LOD, LOQ comparables ^[3]
Ensayo	TOST de Schuirmann	$\theta=\delta$ $\theta=2.0\%$ (Si no hay datos disponibles para calcular δ)
	β ETI-Intervalo de tolerancia de expectativa β	$-\lambda=-5.0$ y $\lambda=5.0$

Nota: calcular δ de acuerdo a lo indicado en el Capítulo General <1010> de la Farmacopea de los Estados Unidos de América haciendo uso de los datos históricos disponible.

Nota^[2]: En caso de que la dispersión resulte estadísticamente significativamente inferior en el laboratorio receptor, se deberá conducir una investigación para discernir las causas.

Nota^[3]: En caso de que los límites de LOD y LOQ sean mejores y significativamente inferiores en el laboratorio receptor, se deberá conducir una investigación para discernir las causas.

Ejemplo de diseño experimental basado en la tabla de Plackett-Burman para tres factores

	Factor 1	Factor 2	Factor 3
	Analista	Equipo	Día
Corrida 1	(+)	(+)	(+)
Corrida 2	(+)	(-)	(-)
Corrida 3	(-)	(+)	(-)
Corrida 4	(-)	(-)	(+)

Nota: (+) y (-) simbolizan factores diferentes.