



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**DETERMINACIÓN DE LA OSMOLALIDAD DE TRANSFERON® COMO
PARÁMETRO DE CALIDAD**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

PRESENTA

EDDY NOEL SANCHEZ GALINDO



CDMX

2020



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: MARIA JOSEFA BERNAD BERNAD

VOCAL: Profesor: SONIA MAYRA PEREZ TAPIA

SECRETARIO: Profesor: ROSA CAMACHO SANDOVAL

1er. SUPLENTE: Profesor: GERARDO LEYVA GOMEZ

2° SUPLENTE: Profesor: CARLOS ALBERTO ALVAREZ LIMON

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

UNIDAD DE DESARROLLO E INVESTIGACIÓN EN BIOPROCESOS (UDIBI).

ASESOR DEL TEMA:

DRA. SONIA MAYRA PÉREZ TAPIA

SUPERVISOR DEL TEMA:

DR. LUIS ALBERTO VALLEJO CASTILLO

SUSTENTANTE:

EDDY NOEL SANCHEZ GALINDO

Contenido.

Índice general.....	3
Abreviaturas.....	5
1. Resumen	6
2. Marco teórico	7
2.1. Industria Farmacéutica.....	7
2.2. Transferon®.....	7
2.3. Osmolalidad; definición e importancia.....	8
2.4. Osmometría.....	9
2.5. Osmómetro Advanced® Instruments 3250.....	10
2.6. Validación de métodos analíticos.....	12
2.7. Atributos de medición del método analítico.....	13
2.7.1. Adecuabilidad al sistema.....	13
2.7.2. Linealidad del sistema.....	13
2.7.3. Especificidad / Selectividad del método.....	14
2.7.4. Linealidad al método.....	14
2.7.5. Exactitud del método.....	14
2.7.6. Repetibilidad.....	14
2.7.7. Precisión Intermedia – Distintos días.....	14
2.7.8. Precisión Intermedia – Distintos analistas.....	15
2.7.9. Estabilidad de la muestra.....	15
2.7.10. Robustez.....	15
2.8. Parámetro de calidad.....	15
2.9. Sistema de gestión de calidad.....	16
3. Justificación.....	17



4. Hipótesis.....	17
5. Objetivos.....	17
6. Estrategia general.....	18
7. Materiales y métodos.....	20
7.1. Equipo.....	20
7.2. Estándares y muestras analíticas.....	20
7.3. Desarrollo del método	21
7.4. Validación del método analítico.....	23
7.5. Análisis de lotes de Transferon®.....	26
7.6. Análisis Estadístico.....	27
7.7. Propuesta de especificación.....	27
8. Resultados.....	28
9. Discusión	52
10. Conclusiones.....	58
11. Perspectivas	59
12. Apéndices.....	60
13. Referencias.....	63



Abreviaturas

µL micro litros

°C grados centígrados

CV Coeficiente de Variación

Da Daltones

DE Desviación Estándar

FEUM Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos

ICH Consejo Internacional de Armonización

h horas

IFA Ingrediente Farmacéutico Activo

kDa kiloDaltones

kg kilogramo

mOsm miliosmoles

NOM Norma Oficial Mexicana

PT Producto Terminado

s segundos

TA Temperatura Ambiente

USP Farmacopea de los Estados Unidos.

Agradecimientos

Uno pensaría que al culminar una meta en nuestras vidas tendríamos satisfacción y orgullo, sin darnos cuenta de que lo verdaderamente importante es el camino que recorreremos para llegar a ella, un camino de experiencias, de vivencias para poder crecer en la vida.

Agradezco a cada una de las personas que se hicieron partícipes de esta etapa de mi vida, y no por menospreciar a ninguna, porque la culminación de esta etapa requirió de miles de personas, y todas forjándome lo mejor de ellas, entregando experiencias, aquellas que son resguardadas y atesoradas en mi corazón.

Disfrutar del día a día de la vida será la prioridad, porque lo único seguro en ella, es la muerte.

Eddy Sanchez



1. Resumen

En los últimos años la industria farmacéutica ha tenido gran auge en el descubrimiento, desarrollo y comercialización de nuevos productos farmacéuticos, implementando nuevos avances tecnológicos con el fin de innovar en la presentación, formulación, modo de empleo, mecanismo de acción, elevar la asequibilidad y accesibilidad a los individuos de la sociedad con el fin de garantizar el derecho y acceso a la salud.

Uno de estos productos es Transferon[®], que es un extracto dializable de leucocitos humanos y tiene una amplia aplicación como adyuvante inmunomodulador de la respuesta inmune en diversas patologías como alergias, enfermedades de origen infeccioso y autoinmidades. Este producto carece de la cuantificación de solutos asociados al proceso de fabricación, y se propone que una de las formas de determinar estos solutos es la determinación de la osmolalidad.

En el presente trabajo se muestra el desarrollo sistematizado y sustentado bajo un sistema de gestión de la calidad para la determinación de la osmolalidad de PT e IFA de Transferon[®], el cual permitirá apreciar el contenido de solutos netos en este producto farmacéutico, así como características generales del proceso, la utilidad para realizar la medición de lotes de forma rutinaria y la emisión de una propuesta de especificación de calidad.

Durante el presente trabajo se realizó el desarrollo de un método analítico, adecuaciones del equipo a emplear; el Osmómetro Advanced Instruments[®] modelo 3250, estandarización del método, el desarrollo de un protocolo de validación, la validación del método analítico acotado a normativa de carácter nacional e internacional, dónde se evaluaron un total de diez atributos de medición (adecuabilidad al sistema, linealidad al sistema, especificidad, linealidad del método, exactitud, repetibilidad, precisión intermedia (días), precisión intermedia (analistas), estabilidad de la muestra y robustez) los resultados fueron emitidos en un reporte de validación y se concluyó que el método es apto para los fines establecidos.

Se realizó un análisis estadístico de la osmolalidad de varios lotes evaluados, obteniendo el promedio y la desviación estándar para valores de PT como IFA, estableciendo una propuesta de especificación de calidad para Transferon[®] que contempla el Promedio \pm 3DE. Para PT la especificación concreta en valores de 74.7 ± 4.5 mOsm/kg, en el caso de IFA la especificación concreta en valores de 160.2 ± 10.5 mOsm/kg, garantizando así la calidad del producto.



2. Marco teórico.

2.1. Industria Farmacéutica.

La Industria farmacéutica es el principal elemento de los sistemas de salud en todo el mundo, se encuentra constituido por organizaciones públicas y privadas enfocadas a la investigación, descubrimiento, desarrollo, fabricación, dispensación y comercialización de medicamentos para la salud humana (Sociales, 1998). Se basa principalmente en la investigación y desarrollo (I + D), de medicamentos enfocados para prevenir o tratar diversas enfermedades, así como el estudio de principios activos y los mecanismos involucrados para llevar a cabo su acción terapéutica (Brunton, 2006).

En los últimos años se ha tenido un auge en el desarrollo de avances científicos y tecnológicos acelerando el desarrollo de diversos productos farmacéuticos de carácter innovador, específicos, con una diversidad de la aplicación de procesos de tecnología farmacéutica para diversificar la presentación y modo de empleo, así como una dinámica social y económica para poder ofertar al público a un menor costo y garantizar el acceso a la salud a la población en general (García, 2009).

2.2. Transferon®

El avance de la inversión en países de economía emergente como lo es México ha permitido el desarrollo de nuevos productos farmacéuticos sustentado en la transferencia tecnológica e innovación en el lanzamiento de bioterapéuticos como es el caso de Transferon® (Robles Belmont, Medina-Molotla, & Pineda-Almanza, 2017).

Transferon®, es un extracto dializable de leucocitos humanos (hDLE) obtenido a partir de sangre de donadores sanos. (Medina-Rivero et al., 2014). Este inmunomodulador es fabricado por el Laboratorio de Investigación Científica en la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas y tiene una amplia aplicación como adyuvante terapéutico en alergias, autoinmidades y enfermedades de origen infeccioso, entre las que se encuentran asma, herpes zóster y artritis reumatoide. (Medina-Rivero et al., 2014)

Transferon® es obtenido mediante la lisis de las células de concentrados leucoplaquetarios, seguido de un paso de diálisis usando una membrana de corte de 12 kDa. El permeado del producto de 12 kDa se somete a ultrafiltración para obtener moléculas por debajo de 10 kDa (Medina-Rivero et al., 2016). A pesar de que el principio activo de Transferon® está definido



con base en el contenido reproducible de péptidos con un tamaño molecular menor a 10 kDa, en el producto final se encuentra cualquier soluto obtenido de la lisis celular o extracelular presente en la materia de partida con un tamaño menor a 10 kDa, como la glucosa, metabolitos, sales orgánicas e inorgánicas, entre otros (UDIMEB, 2018), y se considera útil para la determinación de estos solutos la implementación de la medición de la osmolalidad.

2.3. Osmolalidad; definición e importancia

La osmolalidad es definida por la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos en el MGA 0621 como la forma de expresar la concentración de una solución, asociada a una de las propiedades coligativas de las soluciones, la presión osmótica, que tiene en cuenta el número total de solutos u osmoles presentes en una solución, se expresa generalmente en unidades de concentración mOsm/kg de H₂O

La osmolalidad se define como:

$$\text{Osmolalidad} = \phi nC = \frac{\text{osmol}}{\text{kgH}_2\text{O}}$$

Donde:

ϕ = coeficiente osmótico, que representa el grado o nivel de disociación molecular.

n = cantidad de partículas en las que se puede disociar un molécula.

C = concentración molal de la solución.

La osmolaridad y la osmolalidad son conceptos distintos, la osmolaridad es referida al número de partículas de soluto por litro de solución, pero en osmometría no es utilizada ya que la proporción de solutos en soluciones no es lineal. En cambio, la molalidad y la osmolalidad son lineales, independientemente de la temperatura y del volumen desplazado por el soluto (Dufour, 1993)

La determinación de la osmolalidad es utilizada en diversas áreas de la industria, por ejemplo en el área de producción es utilizada como estándar de calidad y monitoreo de solutos en sus productos ya que en formas farmacéuticas para administración endovenosa u oftálmica puede provocar hemólisis o dolor (Secretaria de Salud, 2019b), en el área clínica es utilizada en patologías como trastornos electrolíticos, acidosis metabólica, ingestión de toxinas entre otros



(Lobdell, 2007). Los laboratorios biofarmacéuticos utilizan la prueba de osmolalidad para garantizar el control de proceso y calidad de las líneas celulares, e insumos de carácter biológico (Dossabhoy, 2018).

2.4. Osmometría

La osmometría es una técnica utilizada para la determinación de las partículas presentes en una solución (Lord, 1999), se basa en el método de punto de congelación, el cual sustenta que cuando un soluto se encuentra disuelto en un solvente (agua), el punto de congelación será menor que únicamente el del solvente, conforme se vaya añadiendo mayor cantidad de solutos el punto de congelación disminuirá de forma proporcional, la medición del punto de congelación no es una técnica específica para determinar la forma o el tamaño de la partícula, únicamente determina el número total de partículas en la solución (Advance Instrument Company, 2008).

La siguiente curva estándar de congelación muestra la temperatura durante la lectura de la osmolalidad de una muestra y la intervención del instrumento en cada etapa del ciclo de acuerdo a la guía de usuario del osmómetro Advanced® modelo 3250.

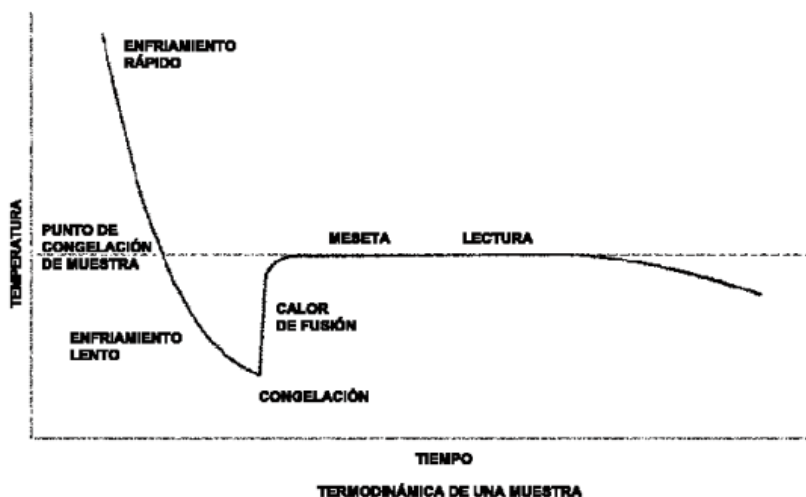


Figura 1. Termodinámica de una muestra durante la lectura en el osmómetro Advanced® Modelo 3250. (Advance Instrument Company, 2008).

Punto de congelación: la muestra se lleva a una temperatura de congelación, a la cual las fases líquida y sólida de una sustancia permanecen unidas y en equilibrio.

Reducción del punto de congelación: dependiendo del número de solutos presentes en la muestra disminuye el punto de congelación del disolvente. En soluciones acuosas, un mOsm de soluto por kilogramo de agua reduce el punto de congelación a 1,858 grados Celsius (°C).

Sobre enfriamiento: es la tendencia de una sustancia a permanecer en estado líquido cuando se enfría a una temperatura menor que su punto de congelación.

Temperatura de cristalización: cuando la muestra llega a un sobre enfriamiento se induce a la cristalización, la temperatura de cristalización es el valor al cual se induce la formación de cristales. En el proceso, el calor de fusión eleva la temperatura de la muestra a un valor de meseta de congelación en fase hielo/agua.

Calor de fusión: es el calor liberado cuando las moléculas en movimiento de un líquido se congelan para formar cristales rígidos de hielo.

Meseta de punto de congelación: la temperatura constante que se mantiene durante el tiempo en que hielo y líquido coexisten en equilibrio isotérmico después de la cristalización y es cuando se realiza la determinación de la osmolalidad de la muestra.

2.5. Osmómetro Advanced® Instruments 3250

El Osmómetro Advanced® Modelo 3250 (Figura 2) es un instrumento diseñado para determinar la osmolalidad con resultados precisos y confiables, tiene la capacidad de analizar una sola muestra por medición, el tamaño de la muestra debe ser de 250µL introducida en una celda desechable, el rango de medición va de 0-4000 mOsm/kg H₂O y el control de la temperatura esta mediado por un baño con líquido de enfriamiento (Advance Instrument Company, 2008).

El instrumento es apto para la medición de diversas muestras y no requiere una preparación de las mismas como suero, plasma, orina o muestras biológicas, realiza la lectura de las muestras en un tiempo de 2 minutos y con una resolución de 1 mOsm/kg H₂O haciéndolo uno de los más innovadores en el mercado (Advance Instrument Company, 2008).





Figura 2. Esquema general del Osmómetro Advanced® Instruments 3250 (Advance Instrument Company, 2008).

Fundamento del Osmómetro Advanced® Instruments 3250

El método para determinar la osmolalidad de Transferon® se basa en la reducción del punto de congelación del agua. El punto de congelación es una propiedad coligativa que permite determinar fácilmente y con gran precisión la concentración de una solución dependiendo su variación. El punto de congelación del H₂O puro es exactamente +0.010 °C. Un mol de un soluto no disociante, tal como la glucosa, disuelto en un kilogramo (kg) de agua reducirá su punto de congelación en 1.858 °C. Este cambio se denomina constante de reducción del punto de congelación del agua (Advance Instrument Company, 2008).

Componentes Principales del Equipo y sus Funciones

- **Cabezal de medición:** El cabezal de medición es la parte superior del osmómetro que contiene un alambre de agitación y congelación que vibra por estimulación eléctrica; una sonda de muestras con termistores, ultra-estable y ultra-precisa; y dispositivos que

automáticamente localizan la sonda y la muestra en la cámara de congelación para llevar a cabo la medición de la muestra.

- **Cámara de congelación:** Las muestras se enfrían mediante una etapa de enfriamiento termoeléctrica. La cámara contiene una pequeña cantidad de fluido de transferencia para una óptima capacidad de enfriamiento.
- **Botón de calibración automático** Se realiza automáticamente la medición y ajuste de la temperatura dinámica de la cámara de congelación de muestras. Procesa información sobre los datos de calibración y la temperatura de las muestras. También presenta los resultados calibrados de las pruebas en la pantalla digital.
- **Pantalla** La pantalla visualiza detalles de la medición, emisión de requerimientos de estándares, detalles de ajustes y resultados.
- **Menú de operaciones:** El teclado permite que el operador introduzca datos en el microprocesador, dónde se muestra la disposición y las funciones de los conmutadores.
- **Impresora:** La impresora provee un registro impreso de los resultados presentados, la identificación de las muestras y otra información necesaria.
- **Escaneador de códigos** El panel posterior del Modelo 3250 posee un conector acoplado con un lector de código de barras para llevar identificación y registro de las muestras.

2.6. Validación de métodos analíticos

La validación de métodos analíticos consta del proceso sistemático, que mediante estudios, se evalúan atributos de desempeño que satisfacen los requisitos para su aplicación analítica, La validación confiere resultados confiables y nos indica que el desarrollo del método es apto para la medición de cualquier muestra en condiciones de rutina (USP, 2011).



La normativa aplicable para la validación de métodos analíticos en México es la FEUM, a nivel internacional se encuentra la guía ICHQ₂R₁, en tales proponen de carácter normativo los procedimientos para satisfacer los requerimientos para demostrar que un método es apto para el fin indicado.

Un método analítico debe ser validado en distintas situaciones; cuando el método es desarrollado para una problemática nueva, cuando sea utilizado diferente instrumentación, centro de trabajo o analistas, cuando el control de calidad indica que un método establecido muestre cambio, cuando la legislación necesite nuevos requerimientos, para demostrar la equivalencia entre dos métodos analíticos, entre otros (Pérez & Trejo, 2005)

2.7. Atributos de medición del método analítico

Se definen como los parámetros o características cuantificables del método que serán evaluadas, los atributos dependen del método analítico a determinar, los principales se basan en linealidad, repetibilidad, exactitud, especificidad, entre otros (MINSAL, 2005).

2.7.1. Adecuabilidad al sistema

La adecuabilidad al sistema son el conjunto de pruebas utilizadas para verificar que todos los componentes del sistema analítico (equipo o instrumentos de medición, operaciones analíticas, muestras analíticas), evaluados funcionan correctamente, en base en criterios establecidos previamente, y permite establecer la confiabilidad del sistema antes de la medición de las muestras analíticas durante el uso rutinario del método analítico (Secretaría de Salud, 2019a).

2.7.2. Linealidad del sistema

La linealidad al sistema es la verificación de que la respuesta analítica y la concentración del analito o sustancia de referencia se ajustan a los requerimientos y ajustes del método, en un intervalo de concentraciones pertinentes a la aplicación analítica y debe estar acotada bajo las condiciones del laboratorio (Secretaría de Salud, 2019).



2.7.3. Especificidad / Selectividad del método

La especificidad o también llamada selectividad mide la capacidad de evaluar en forma inequívoca únicamente al analito de interés en presencia de otros componentes como productos de degradación, impurezas, y componentes de la matriz (Convención de Farmacopea de los Estados Unidos, 2007).

2.7.4. Linealidad al método

La linealidad se considera cuando existe una correlación directamente proporcional entre la respuesta obtenida al realizarse el método y la concentración del analito dentro del rango de concentraciones buscado (rango de trabajo), y este es definido por la utilidad y finalidad del método analítico además puede representar una parte de la línea recta, la evaluación requiere un mínimo de evaluar al menos 5 concentraciones delimitado por niveles superiores e inferiores (Anderson, 2010).

2.7.5. Exactitud del método

La exactitud mide la proximidad de concordancia entre el resultado experimental de una medición y el valor de referencia. Cuando se aplica a la serie de mediciones de resultados de prueba involucra una combinación de componentes aleatorios (Barwick et al., 2016).

2.7.6. Repetibilidad

La repetibilidad expresa la coincidencia dentro de un periodo corto bajo las mismas condiciones de operación en el mismo día, misma muestra, mismo analista y misma instrumentación (Guideline, 2005).

2.7.7. Precisión Intermedia – Distintos días

La precisión expresa la cercanía de coincidencia entre una serie de mediciones obtenida de múltiples análisis de una muestra homogénea bajo iguales condiciones. Su medición implica utilizar muestras homogéneas, o diluciones de la muestra (MINSa, 2005).

La evaluación de la precisión intermedia durante distintos días define la cercanía de múltiples mediciones dentro del mismo laboratorio, mismo uso de equipo, mismo analista, misma muestra pero existe una variante que es la evaluación de diversos días establecidos para verificar la estabilidad de la muestra (MINSa, 2005).



2.7.8. Precisión Intermedia – Distintos analistas

Es la medida de la precisión de una técnica efectuada de la misma muestra, mismo instrumental, mismo laboratorio variando el trabajo de diferentes analistas para evaluar el error humano (Trujillo Lozano, 2015).

2.7.9. Estabilidad de la muestra

La estabilidad de la muestra es una medida en la que se evalúa el grado de estabilidad de la muestra analítica, sometida a diversos factores seleccionados a estudiar, los factores deben tener un sustento bibliográfico en los que se justifique que puedan causar variabilidad en los resultados como; pH, temperatura, condiciones de almacenamiento, contenido, interacción con componentes utilizados durante la ejecución del método analítico y arrojan la confiabilidad de los resultados del método analítico evaluado (Pérez & Trejo, 2005).

2.7.10. Robustez

La robustez de un procedimiento analítico es una medida de la capacidad de permanecer sin modificaciones por diversas variaciones en los parámetros del método y arroja la confiabilidad durante mediciones de uso normal (U. S. Food and Drug Administration/Center for Biologics Evaluation and Research, 1995).

2.8. Parámetro de calidad

Un parámetro de calidad es referido a instrumentos de medición que sean tangibles y cuantificables los cuales tienen la capacidad de permitir evaluar la calidad de procesos, servicios y productos con el fin de asegurar la satisfacción de los clientes, tienen como características principales que deben ser representativos, realistas, efectistas, accesibles, sensibles a las variaciones de lo evaluado y sencillos de calcular (International Standard Organization, 2008)

La implementación de parámetros de calidad permite a las organizaciones acotar acciones en función de la legislación de instancias regulatorias vigentes, además de tener un mejor control sobre los procesos, mantener la calidad de los servicios que se ofertan, enfocar a la mejora continua, garantizar resultados, consistencia en el manejo de recursos y poder tomar acciones preventivas y correctivas (García Aponte, Vallejo Díaz, & Mora Huertas, 2015). Los programas de acciones correctivas y acciones preventivas, la implementación de sistemas de gestión de



riesgo e implementación de sistemas de gestión de la calidad permite garantizar a las organizaciones el cumplimiento respecto a la legislación, compromiso con el cliente, y el aseguramiento de la calidad en la industria farmacéutica (Mora Huertas, 2009).

2.9. Sistema de gestión de calidad

Un sistema de gestión de la calidad es un sistema mediante el cual se dirige y se controla la calidad de cualquier organización (Teeluckdharry, 2008), y es ampliamente utilizado en organizaciones para la mejora continua, decisiones estratégicas que impacten de forma directa o indirecta a la organización, su diseño conlleva a un análisis introspectivo de las necesidades, tipo de producto o servicio que se oferta, los procesos empleados, tamaño, estructura de la organización, objetivos y metas fijadas (Amo Fernández, 1995).

En la Industria Biofarmacéutica es de vital importancia contar con un sistema de gestión de la calidad, el cual se encuentra enfocado en hacer más viable el cumplimiento de las Buenas Prácticas y el apego al cumplimiento de documentos regulatorios vigentes que sean aplicables a sus producciones. La implementación de un sistema de gestión garantiza el cumplimiento de las Buenas Prácticas de Fabricación (BPF), y demás regulaciones enfocadas a garantizar la eficacia, seguridad y calidad de los productos fabricados, así como los estudios de investigación que sean realizados y dirigidos a la mejora continua de la organización (“Consideraciones para la mejora de los sistemas de gestión de la calidad en la Industria Biofarmacéutica”, 2010)



3. Justificación.

Transferon® es un inmunomodulador obtenido de la ultrafiltración de lisados leucoplaquetarios. Su principio activo es una mezcla compleja de péptidos de bajo peso molecular (<10 kDa). Sin embargo, durante su fabricación se obtienen varios solutos de pequeño peso molecular, como la glucosa, metabolitos, así como sales orgánicas e inorgánicas, que no pueden ser removidos del proceso final debido a su bajo peso molecular. A pesar de que estos solutos son inocuos, su monitoreo es indispensable para establecer un control de calidad que refleje la confiabilidad del proceso de fabricación. Adicionalmente establecer un método para el desarrollo de nuevos productos.

4. Hipótesis.

La implementación y validación de un método analítico para la determinación de la osmolalidad de Transferon® permitirá conocer el contenido de solutos totales entre distintos lotes y establecer un atributo de calidad con base en esta característica.

5. Objetivos.

General

- Determinar la osmolalidad del Transferon®, empleando un método validado, y usar este parámetro para proponer una especificación de calidad de producto terminado e ingrediente farmacéutico activo (IFA).

Particulares

- Desarrollar un método analítico para determinar la osmolalidad de Transferon® oral.
- Diseñar y ejecutar la validación del método.
- Emitir el método analítico.
- Determinar la osmolalidad de 5 lotes de producto terminado y 5 lotes de IFA de Transferon® recién fabricados.
- Proponer una especificación de calidad para Transferon®.



6. Estrategia general

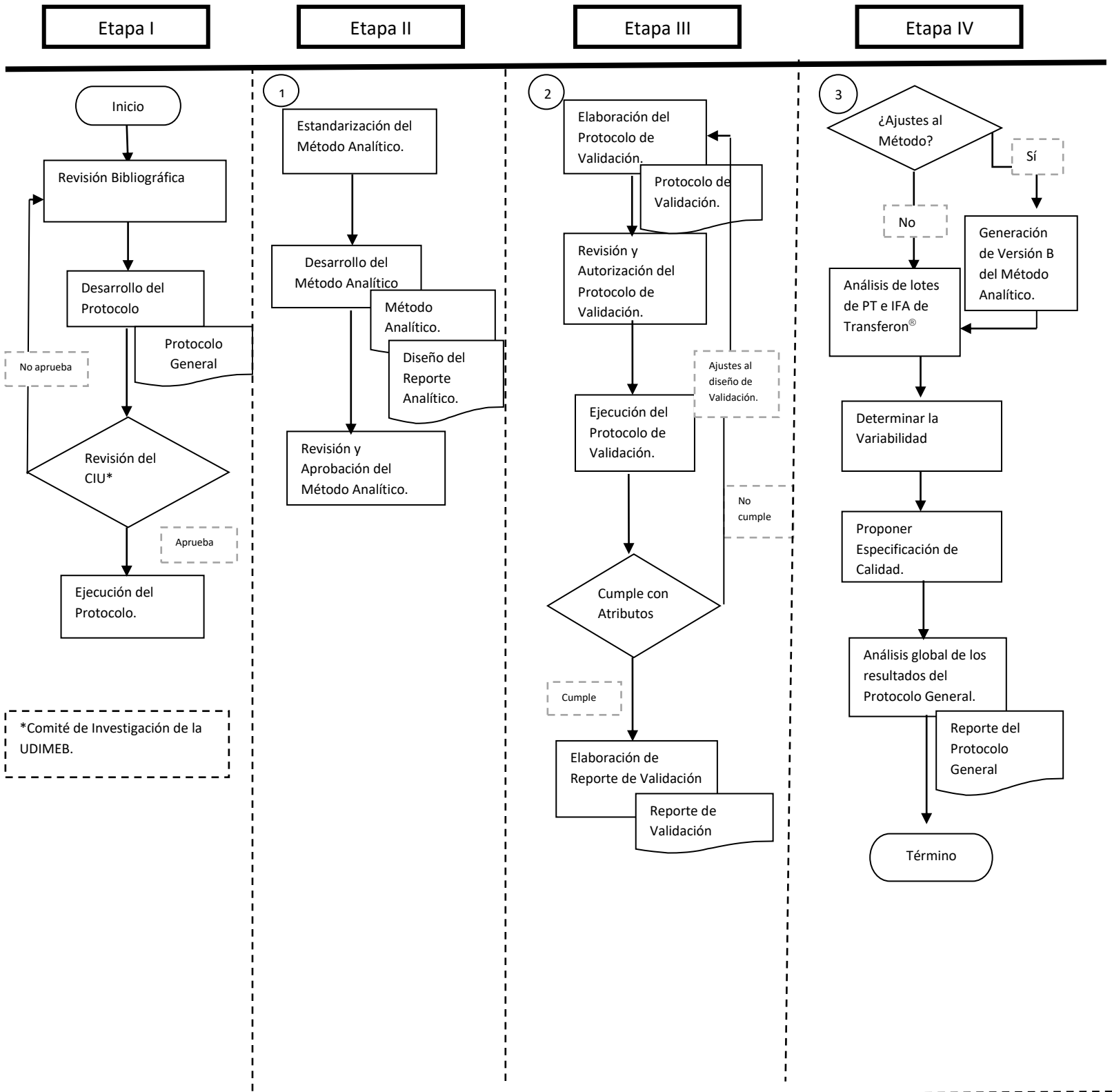
La ejecución de este trabajo fue sustentada bajo Buenas Prácticas de Documentación y un sistema de gestión de la calidad, cada etapa fue inspeccionada por la Unidad Interna de Aseguramiento de Calidad para garantizar la conformidad con la normatividad aplicable, el cumplimiento del protocolo y conforme a las Buenas Prácticas de Laboratorio.

En cada etapa se documentó de acuerdo al SGC, el cual involucra la elaboración de protocolos, métodos analíticos y reportes analíticos. El protocolo fue revisado y aprobado por el comité de investigación de la UDIBI (CIU) (Oficio: UDIMEB/0565/2019).

Etapas	Documento	Código de acuerdo al SGC	Descripción
Etapa I	Protocolo General	P3/19/007	Planteamiento y desarrollo del proyecto.
Etapa II	Método Analítico "Determinación de la Osmolalidad de Transferon [®] "	U043-MA	Detalle de medición de muestras.
Etapa II	Reporte Analítico "Determinación de la Osmolalidad de Transferon [®] "	U043-RA	Formato de reporte de resultados de la medición de muestras.
Etapa III	Protocolo de Validación "Determinación de la Osmolalidad de Transferon [®] "	U043-PVA	Detalle de atributos a evaluar durante la validación.
Etapa III	Reporte de Validación del Método "Determinación de la Osmolalidad de Transferon [®] "	U043-RVA	Reporte de resultados de la validación.
Etapa IV	Reporte General	U043-RG	Reporte de resultados obtenidos del protocolo general.

Tabla 1. Descripción de documentos elaborados a través de las diversas etapas del protocolo.

Estrategia general del protocolo.



7. Materiales y métodos.

7.1 Equipo

Se utilizó un osmómetro de análisis de muestra única de la marca Advanced Instruments® modelo 3250, el cual se encontraba con verificación vigente al momento de realizar el presente trabajo. En cada corrida analítica se verificó el funcionamiento del equipo empleando los estándares mencionados en la sección 7.2. También se monitoreó en todo momento los niveles del fluido de transferencia de calor (Marca Advanced Instruments®).

7.2 Estándares y muestras analíticas

Se utilizaron los estándares para la calibración del equipo de acuerdo con la guía de usuario proporcionada por el fabricante. Los estándares estuvieron contenidos en ampollas de vidrio, en condiciones de refrigeración a una temperatura de 2-8°C, no necesitaron un tratamiento previo, directamente fueron utilizados para la calibración del equipo.

A continuación se muestra el nombre de los estándares y su descripción para el uso del Osmómetro Advanced® Instruments 3250.

Nombre	Descripción
Estándar 50 mOsm/kg	Catálogo 3MA005 Marca Advanced Instruments®
Estándar 100 mOsm/kg	Catálogo 3LA011 Marca Advanced Instruments®
Estándar 900 mOsm/kg	Catálogo 3LA091 Marca Advanced Instruments®
Estándar 1 500 mOsm/kg	Catálogo 3LA151 Marca Advanced Instruments®
Estándar 3 000 mOsm/kg	Catálogo 3LA301 Marca Advanced Instruments®

Tabla 2. Estándares utilizados para la calibración del equipo Osmómetro Advanced Instruments®.

La preparación de las sustancias a utilizar se realizó de la siguiente manera:

- a. **Estándares:** Se obtuvieron los estándares solicitados por el equipo para la calibración y dejarlos atemperar por 5 min.
- b. **Blanco:** Se obtuvo el diluyente de la muestra que se analizará, se empleará agua tipo 1.

- c. **Muestras de Transferon® producto terminado:** Se descongelaron los viales a temperatura ambiente durante 2 h, en el caso de las diluciones se empleó agua tipo 1.
- d. **Muestras de Transferon® producto intermedio:** Se atemperaron las muestras a temperatura ambiente durante 5 min, en el caso de las diluciones se empleó agua tipo 1.

7.3 Desarrollo del método

El método analítico se basó en una serie de actividades para realizar la medición de la osmolalidad en los equipos descritas a continuación.

- **Encendido del equipo:** Se encendió el equipo, y se realizó un autoanálisis de forma automática para verificar la funcionalidad de las partes del equipo.
- **Manejo de muestras:** Se utilizaron celdas desechables marca Advanced Instruments® de tamaño uniforme, las muestras se manipularon empleando una micro pipeta de capacidad de 100-1000 μL con sus respectivas puntas vertiendo en las celdas descritas anteriormente, debe verterse un volumen de 250 μL .
- **Preparación de la muestra:** Las muestras no requirieron preparación especial, se colocaron directamente en la celda.
- **Verificación de la calibración:** Se verificó el estado de calibración del equipo, mostrando un mensaje en la pantalla, si el equipo lo requería se colocaron los estándares solicitados por parte del equipo hasta que emitió la leyenda "Osmómetro listo", significó que el osmómetro 3250 estaba calibrado y listo para funcionar
- **Lectura de Prueba:** La lectura de prueba se llevó a cabo únicamente la primera vez que uso el equipo durante el día, cada que se colocó una muestra diferente se limpió la sonda con un papel no iónico suave y libre de partículas.
- **Lectura de muestras:** Se vertió un volumen de 250 μL de la muestra con ayuda de la micro pipeta y fue colocado en una celda nueva, se colocó en la cámara de



congelación, dio inicio el equipo y de forma automática comenzó a medir la muestra, el cabezal de medición bajó y empezó la medición de la muestra, este proceso tardó alrededor de 2min, después emitió el valor de resultado de la osmolalidad.

- **Limpieza del equipo:** Después de cada prueba se limpió con cuidado la sonda, el alambre de agitación con un papel desechable, suave, limpio, seco y sin pelusas, se humedeció con agua tipo 1 para eliminar cualquier tipo de residuo.
- **Apagado del equipo:** Una vez terminando la lectura de las muestras, se realizó la limpieza del equipo anteriormente descrita, se procedió con el apagado del equipo.
- **Registro de resultados:** El equipo de forma automática emitió un ticket termo sensible dónde quedaron plasmados los resultados obtenidos de las mediciones, se desprendió y se elaboraron los reportes analíticos dónde se muestran de forma objetiva los resultados obtenidos.

La **estandarización** del método se llevó a cabo con el lote 18A02 para IFA y 18J26 para PT con el fin de delimitar el rango de trabajo durante la medición de las muestras de PT e IFA de Transferon®

Se tomaron las condiciones de seguridad básicas por parte del analista; se portó bata, guantes y lentes de seguridad durante la ejecución del trabajo. Así mismo los residuos generados se desecharon de acuerdo a protocolos internos de la unidad.

Antes de realizar cualquier medición se realizó la medición de la Adecuabilidad del sistema que constó de la siguiente manera

- a. Se analizó una alícuota 250 µL del estándar de 100 mOsm/kg por triplicado.
- b. Verificar que se cumplan los criterios de adecuabilidad de la Tabla 3.

Muestras a analizar	Parámetro por evaluar	Criterio
Estándar de 100 mOsm/kg	Coefficiente de variación (CV) del análisis por triplicado	$CV \leq 10 \%$
	Promedio del análisis por triplicado.	100 ± 3 mOsm/kg

Tabla 3. Parámetros de Adecuabilidad del método analítico para la determinación de la Osmolalidad de Transferon®

7.4 Validación del método analítico.

Para la validación se utilizó una muestra de 30mL de Ingrediente Farmacéutico Activo (IFA) de Transferon® con un número de lote 19J21, con caducidad de Octubre del año 2021, fabricado por el Laboratorio de Investigación Científica con una concentración de 0.8 a 1.4mg/mL. Adicionalmente, se empleó un alícuota 9 mL de PT del mismo lote para la evaluación de especificidad, además del diluyente de Transferon® que es Agua estéril para uso inyectable marca PiSA® (Lote H19A149, caducidad ABRIL 2024).

En la Tabla 4 se muestra los atributos de desempeño evaluados en la validación del método analítico.

No.	Atributo de Medición	Muestras a preparar y/o analizar	Parámetro por evaluar	Criterio
1	Adecuabilidad al sistema	Estándar de 50 mOsm/kg por Triplicado	Coeficiente de variación (CV).	$CV \leq 10.0\%$
			Promedio	50.0 ± 2.0 mOsm/kg
2	Linealidad al sistema	Medición por triplicado de una curva estándar conformada por las siguientes muestras: Estándar de 500 mOsm/kg Dilución 250 mOsm/kg Dilución 200 mOsm/kg Estándar 100 mOsm/kg Estándar 50 mOsm/kg	Promedio del coeficiente de correlación (r^2)	$r^2 \geq 0.99$
3	Especificidad del método	Blanco de corrida (Agua tipo 1) por triplicado	Promedio	Osmolalidad ≤ 10.0 mOsm/kg
		Diluyente de Transferon® por triplicado	Promedio	Osmolalidad ≤ 10.0 mOsm/kg
		Transferon® (PT) por triplicado	Promedio	Osmolalidad > 20.0 mOsm/kg
		Transferon® (IFA) por triplicado	Promedio	Osmolalidad > 20.0 mOsm/kg
4	Linealidad del método	Evaluar por triplicado independiente una curva de. 100%, 80%, 60%, 40% y 20% del IFA de Transferon®.	Promedio del coeficiente de correlación (r^2)	$r^2 \geq 0.95$

No.	Atributo de Medición	Muestras a preparar y/o analizar	Parámetro por evaluar	Criterio
5	Exactitud del método	Análisis por triplicado de las diluciones 90%, 60% y 30% de IFA de Transferon®	Porcentaje de recobro (% recobro)	% recobro = 95.0 – 105.0%
6	Repetibilidad	Análisis por sextuplicado de las diluciones 90%, 60% y 30% de IFA de Transferon®.	CV	$CV \leq 5.0\%$
7	Precisión intermedia – Distintos días	Análisis por sextuplicado de las diluciones 90%, 60% y 30% de IFA de Transferon® por 3 días distintos.	CV	$CV \leq 5.0\%$
			% recobro	% recobro = 95.0 – 105.0 %
8	Precisión intermedia – Distintos analistas	Análisis por sextuplicado de las diluciones 90%, 60% y 30% de IFA de Transferon® por 2 analistas distintos.	CV	$CV \leq 5.0\%$
			% recobro	% recobro = 95.0 – 105 %
9	Estabilidad de la Muestra	Análisis por triplicado de las diluciones 90%, 60% y 30% de IFA de Transferon® a las 0h (T0) y al menos 24 h después.	CV	$CV \leq 5.0\%$
			% recobro	% recobro = 95.0 – 105.0%
		Análisis por triplicado de IFA de Transferon® con al menos 1 ciclo de congelación (-80°C, 4 h) / descongelación (TA, por 2 h).	CV	$CV \leq 5.0\%$
			% recobro	% recobro = 95.0 – 105.0%
10	Robustez a la temperatura de la muestra	Análisis por triplicado de IFA a diferentes temperaturas 18°C, 10°C y 3°C.	CV recobro	$CV \leq 5.0\%$
			% recobro	% recobro = 95.0 – 105.0%

Tabla 4. Parámetros de desempeño a evaluar en la validación del método analítico “Determinación de la Osmolalidad de Transferon® como parámetro de calidad.”.



Adecuabilidad al sistema

Se utilizó el estándar de 50 mOsm/kg por triplicado y se determinó el promedio y el coeficiente de variación (CV) de las mediciones.

Linealidad al sistema

Se preparó una curva estándar compuesta por 5 niveles de osmolalidad: 500mOsm/kg, 250mOsm/kg, 200mOsm/kg, 100mOsm/kg, 50mOsm/kg., se calculó el coeficiente de correlación y la ecuación de tres curvas independientes.

Especificidad / Selectividad del método

Se determinó la osmolalidad del excipiente de Transferon® (agua inyectable) y del agua MiliQ (blanco de corrida), y sus resultados se compararon con los de PT e IFA de Transferon®; las muestras fueron analizadas por triplicado independiente.

Linealidad al método

Se realizaron diluciones del IFA de Transferon® en cinco niveles de concentración 100%, 80% 60% 40% y 20%, se obtuvo el promedio del coeficiente de correlación (r^2) de tres curvas independientes.

Exactitud del método

Se realizaron diluciones del IFA en tres niveles de concentración 90%, 60% y 30% y evaluaron por triplicado, el porcentaje de recobro.

Repetibilidad

Se determinó el coeficiente de variación del análisis por sextuplicado de IFA en tres niveles de concentración de IFA (90%, 60% y 30%).

Precisión Intermedia – Distintos días

Se analizaron por triplicado tres diluciones (90%, 60% y 30%) de IFA de Transferon® y se determinó el coeficiente de variación (CV) y el % de recobro de cada dilución evaluada.



Precisión Intermedia – Distintos analistas

Se analizaron por triplicado tres diluciones (90%, 60% y 30%) de IFA de Transferon® y se determinó el coeficiente de variación (CV) y el % de recobro de cada dilución evaluada.

Estabilidad de la muestra

Se determinó la precisión y exactitud de los valores de osmolalidad de tres niveles de concentración 90%, 60% y 30% por triplicado a las 0h y al menos a las 24h posteriores. Siguiendo el mismo esquema, se determinó la estabilidad de IFA al 100% de Transferon® después de, al menos, un ciclo de congelación-descongelación (-80°C, 4 h) / descongelación (TA, por 2 h).

Robustez a la temperatura de la muestra

Para ello se siguió el mismo esquema de estabilidad de la evaluación de la estabilidad, pero las muestras serán almacenadas en refrigeración y analizadas cuando alcancen una temperatura de: 18°C, 10°C y 3°C.

7.5 Análisis de lotes de Transferon®

Se realizó un convenio con el área de fabricación en el cuál se estableció la colaboración en conjunto para facilitar la donación de muestras de fabricación actual para la determinación de la osmolalidad en todos los lotes evaluados de Transferon®

A continuación se muestran tablas en la cuales se muestran los lotes evaluados de fabricación y su fecha de obtención.

Muestras a analizar de IFA de TRANSFERON®		
Año	Lote	Cantidad requerida
2019	19J21(Obtención:17/OCT/2019)	3 alícuotas de 3mL
	19J22(Obtención:24/OCT/2019)	3 alícuotas de 3mL
	19J23 (Obtención:31/OCT/2019)	3 alícuotas de 3mL
	19K24(Obtención:07/NOV/2019)	3 alícuotas de 3mL
	19K25(Obtención:14/NOV/2019)	3 alícuotas de 3mL

Muestras de producción (2019)

Tabla 5. Muestras requeridas de IFA para la ejecución del protocolo "P3/2019/007, Determinación de la Osmolalidad de Transferon® como parámetro de calidad."

Muestras a analizar de PT de TRANSFERON®		
Año	Lote	Cantidad requerida
2019	19J21(Obtención:17/OCT/2019)	3 alícuotas de 3mL
	19J22(Obtención:24/OCT/2019)	3 alícuotas de 3mL
	19J23 (Obtención:31/OCT/2019)	3 alícuotas de 3mL
	19K24(Obtención:07/NOV/2019)	3 alícuotas de 3mL
	19K25(Obtención:14/NOV/2019)	3 alícuotas de 3mL

Muestras de
producción
(2019)

Tabla 6. Muestras requeridas de IFA para la ejecución del protocolo “P3/2019/007, Determinación de la Osmolalidad de Transferon® como parámetro de calidad.”

7.6 Análisis estadístico

Con los datos obtenidos del Osmómetro Advanced Instruments® de la osmolalidad de las muestras evaluadas se calcularon los parámetros estadísticos propuestos mediante el uso del software Excel 2016™, y se generó un reporte de validación en donde se plasmaron los resultados de los parámetros evaluados.

7.7 Propuesta de especificación

Se determinó la variabilidad de la osmolalidad de los lotes de Transferon® evaluados, se calculó el promedio, coeficiente de variación mediante el uso del software Excel 2016™, contenidos en reportes analíticos por cada día de análisis y se propuso una propuesta de especificación para osmolalidad de Transferon® en base a su variabilidad.



8. Resultados.

Estandarización

El objetivo de la estandarización fue delimitar el rango de trabajo del producto farmacéutico Transferon® y poder adecuar los atributos de desempeño a evaluar durante el desarrollo del método analítico “Determinación de la osmolalidad de Transferon®” obteniéndose los siguientes resultados.

Muestra	Mediciones (mOsm/kg)		
Transferon® Producto Terminado Lote 18J27	62.0	63.0	63.0
Promedio (mOsm/kg)	62.6		
CV (%)	0.4%		

Tabla 7. Estandarización del Producto Transferon® Producto Terminado.

Muestra	Mediciones (mOsm/kg)		
Transferon® IFA Lote 18A02	180.0	180.0	181.0
Promedio (mOsm/kg)	180.6		
CV (%)	0.4%		

Tabla 8. Estandarización del Producto Transferon® Ingrediente Farmacéutico Activo.



Validación

El objetivo de la validación fue demostrar que el método analítico “Determinación de la osmolalidad de Transferon®.” es adecuado para el análisis del Ingrediente Farmacéutico Activo (IFA) y Producto Terminado (PT).

La validación del método comprendió la evaluación de 10 atributos: adecuabilidad del sistema, linealidad al sistema, especificidad, linealidad del método, exactitud del método, repetibilidad, precisión intermedia (días), precisión intermedia (analistas), estabilidad de la muestra y robustez.

Para la validación se empleó Ingrediente Farmacéutico Activo (IFA) de Transferon® con menos de 48 h de fabricación (lote 19J21) y los estándares mostrados en la Tabla 9; como excipiente se empleó agua estéril para uso inyectable, marca PiSA® (Lote H19A149, caducidad ABRIL 2024).

Nombre	Marca / catálogo	Vigencia	Uso
Estándar de Calibración de 500 mOsm/kg	ADVANCED® INSTRUMENTS. Catálogo 3LA301	2020-03	Medición de atributo Linealidad al Sistema
Estándar de Calibración de 100 mOsm/kg	ADVANCED® INSTRUMENTS. Catálogo 3LA011	2020-11	Medición de atributo Linealidad al Sistema
Estándar de Calibración de 50 mOsm/kg	ADVANCED® INSTRUMENTS. Catálogo 3MA005	2022-01	Medición de atributo Linealidad al Sistema

Tabla 9. Estándares de osmolalidad empleados en la validación del método analítico “Determinación de la osmolalidad de Transferon®.”

A continuación se muestra a desglose los resultados de los atributos de medición evaluados durante la validación.

Adecuabilidad al sistema

Para la evaluación de este atributo se utilizó el estándar de 50 mOsm/kg, el cual fue analizado por triplicado de forma independiente. De las mediciones se obtuvo el promedio y el coeficiente de variación (CV) siguientes:

Muestra	Mediciones (mOsm/kg)		
Estándar de 50 mOsm/kg	51.0	51.0	51.0
Promedio (mOsm/kg)	51.0		
CV (%)	0.0%		
Criterios de aceptación	CV <10.0%		
	Promedio 50.0 ± 2.0 mOsm/kg		

Tabla 10. Evaluación de la Adecuabilidad al sistema del método analítico "Determinación de la osmolalidad de Transferon®".

Linealidad al sistema

Se evaluó la proporcionalidad de la respuesta analítica al incremento de la concentración de solutos mediante el análisis de tres curvas de calibración, las cuales estuvieron conformadas por las siguientes osmolalidades: 500mOsm/kg, 250mOsm/kg, 200mOsm/kg, 100mOsm/kg, 50mOsm/kg. Para cada curva se calculó la ecuación de la recta y el coeficiente de correlación (r^2).

Nivel de concentración	Curva 1 (mOsm/kg)	Curva 2 (mOsm/kg)	Curva 1 (mOsm/kg)
500mOsm/kg	503.0	505.0	504.0
250mOsm/kg	247.0	248.0	250.0
200mOsm/kg	190.0	191.0	202.0
100mOsm/kg	97.0	97.0	94.0
50mOsm/kg	51.0	51.0	51.0
Ecuación	$y=1.0093x-4.4390$	$y=1.0139x-4.6585$	$y=1.0133x-2.7154$
r^2	0.99	0.99	0.99
Promedio r^2	0.99		
Criterio de aceptación	$r^2 > 0.95$		

Tabla 11. Evaluación de la Linealidad al sistema del método analítico "Determinación de la osmolalidad de Transferon®.

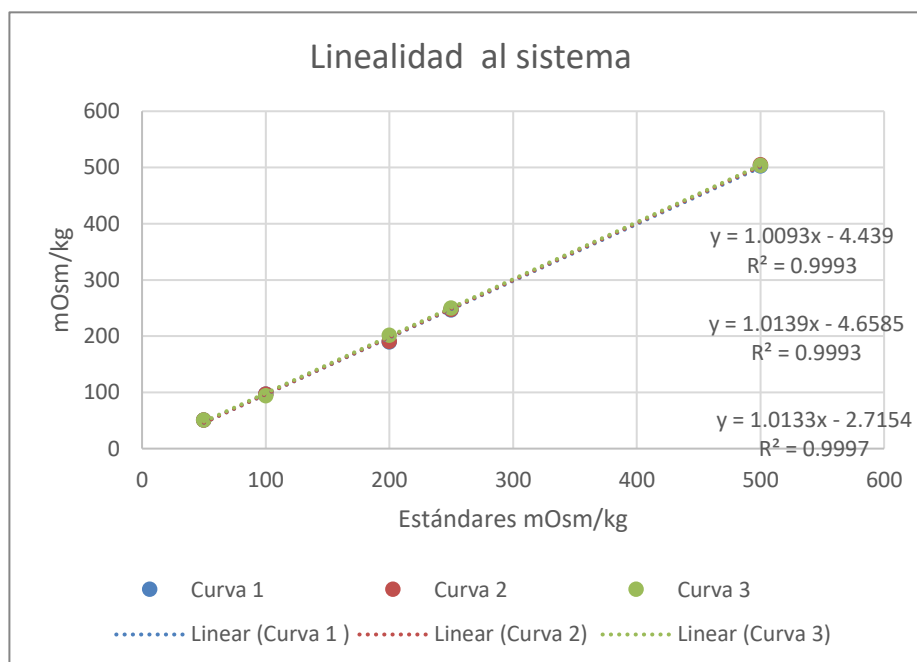


Gráfico 1. Evaluación de la Linealidad al sistema del método analítico "Determinación de la osmolalidad de Transferon®.

Especificidad / Selectividad

Se determinó la capacidad del método analítico para responder al contenido de solutos osmolalmente activos de una muestra y no a otras sustancias presentes en los excipientes. Para ello se analizaron por triplicado el blanco de agua tipo 1, el agua grado inyectable, así como PT e IFA de Transferon®.

Réplica \ Muestras	Blanco de Corrida (Agua tipo 1) (mOsm/kg)	Diluyente de Transferon® (mOsm/kg)	Transferon® PT (mOsm/kg)	Transferon® IFA (mOsm/kg)
1	0.0	0.0	74.0	160.0
2	0.0	0.0	74.0	160.0
3	0.0	0.0	74.0	161.0
Promedio	0.0	0.0	74.0	160.3
DE	0.0	0.0	0.0	0.4
CV (%)	0.0	0.0	0.0	0.2
Criterio de aceptación	Osmolalidad < 10.0 mOsm/kg		Osmolalidad > 20.0 mOsm/kg	

Tabla 12. Evaluación de la Especificidad / Selectividad del método analítico "Determinación de la osmolalidad de Transferon®.

Linealidad al método

Se evaluó la proporcionalidad de la respuesta de distintas diluciones del IFA de Transferon®. Se analizaron tres curvas conformadas por las siguientes diluciones 100%, 80%, 60, 40% y 20%. Se determinó por triplicado el coeficiente de correlación de tres curvas, obteniéndose los siguientes resultados.

Nivel de concentración	Curva 1 (mOsm/kg)	Curva 2 (mOsm/kg)	Curva 1 (mOsm/kg)
100%	160.0	160.0	161.0
80%	122.0	128.0	125.0
60%	97.0	94.0	95.0
40%	66.0	68.0	67.0
20%	29.0	34.0	34.0
Ecuación de la recta	$y=1.59x-0.6$	$y=1.56x+3.2$	$y=1.56x+2.8$
r^2	$r^2=0.99$	$r^2=0.99$	$r^2=0.99$
Promedio r^2	$r^2=0.99$		
Criterio de aceptación	$r^2 > 0.95$		

Tabla 13. Evaluación de la Linealidad al método del método analítico "Determinación de la osmolalidad de Transferon®".

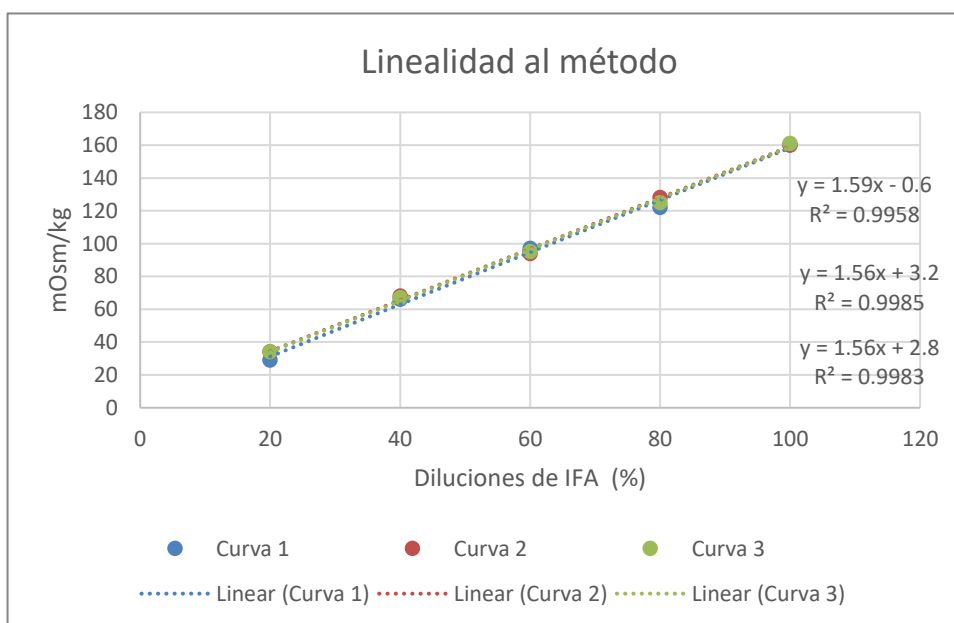


Gráfico 2. Evaluación de la Linealidad al método del método analítico "Determinación de la osmolalidad de Transferon®".

Exactitud del método

Se determinó el grado de concordancia entre los resultados experimentales obtenidos por el método y los valores de osmolalidad teóricos de tres diluciones de IFA de Transferon® (90%, 60% y 30%). Cada nivel fue analizado por triplicado y de los resultados obtenidos se calculó el porcentaje de recobro.

Medición \ Muestra	Dilución 90% (mOsm/kg)	Dilución 60% IFA (mOsm/kg)	Dilución 30% IFA (mOsm/kg)
1	145.0	96.0	48.0
2	144.0	96.0	48.0
3	144.0	95.0	46.0
Promedio	144.3	95.6	47.3
DE	0.4	0.4	0.9
CV (%)	0.2	0.2	1.9
Valor teórico	144.2	96.1	48.0
Recobro (%)	100.0	99.4	98.5
Criterio de aceptación	% recobro = 95.0 – 105.0%		

Tabla 14. Evaluación de la Exactitud del método analítico "Determinación de la osmolalidad de Transferon®".

Repetibilidad

Se evaluó la variación de los resultados de las muestras dentro de la misma corrida analítica, midiendo la variación en condiciones de rutina. Se determina a partir de las mediciones por sextuplicado de IFA a tres niveles de concentración 90%, 60% y 30% y se determinó el coeficiente de variación (CV) de cada disolución evaluada, obteniéndose los siguientes resultados.

Muestra Medición	Dilución 90% IFA (mOsm/kg)	Dilución 60% IFA (mOsm/kg)	Dilución 30% IFA (mOsm/kg)
1	137.0	95.0	48.0
2	144.0	94.0	47.0
3	133.0	95.0	47.0
4	145.0	96.0	48.0
5	144.0	96.0	48.0
6	144.0	95.0	46.0
Promedio (mOsm/kg)	141.1	95.1	47.3
DE (mOsm/kg)	4.5	0.6	0.7
CV (%)	3.1	0.6	1.4
Criterio de aceptación	CV < 5.0%		

Tabla 15. Evaluación de la Repetibilidad del método analítico "Determinación de la osmolalidad de Transferon®".

Precisión Intermedia – Días.

Se evaluó la consistencia de datos por el análisis de tres diluciones 90%, 60% y 30% de IFA por sextuplicado en tres días distintos, se calculó coeficiente de variación (CV) y % de recobro de cada dilución evaluada, obteniéndose los siguientes resultados.

Muestra Medición	Dilución 90% IFA (mOsm/kg)	Dilución 60% IFA (mOsm/kg)	Dilución 30% IFA (mOsm/kg)
Día 1	137.0	95.0	48.0
	144.0	94.0	47.0
	133.0	95.0	47.0

	145.0	96.0	48.0
	144.0	96.0	48.0
	144.0	95.0	46.0
Día 2	144.0	97.0	49.0
	144.0	97.0	48.0
	144.0	96.0	48.0
	142.0	97.0	47.0
	145.0	97.0	48.0
	144.0	96.0	48.0
Día 3	143.0	97.0	49.0
	144.0	95.0	48.0
	142.0	99.0	48.0
	143.0	97.0	48.0
	144.0	99.0	49.0
	142.0	95.0	48.0
Promedios	Promedio día 1 141.1	Promedio día 1 95.1	Promedio día 1 47.3
	Promedio día 2 144.0	Promedio día 2 96.6	Promedio día 2 48.0
	Promedio día 3 143.0	Promedio día 3 97.0	Promedio día 3 48.3
DE	DE día 1= 4.5	DE día 1= 0.6	DE día 1= 0.7



	DE día 2= 1.0	DE día 2= 0.4	DE día 2= 0.5
	DE día 3= 0.8	DE día 3= 1.6	DE día 3= 0.4
CV (%)	CV día 1= 3.1	CV día 1= 0.6	CV día 1= 1.4
	CV día 2= 0.6	CV día 2= 0.4	CV día 2= 1.0
	CV día 3= 0.5	CV día 3= 1.6	CV día 3= 0.8
Valor teórico	144.2	96.1	48.0
Recobro (%)	Recobro día 1 = 97.8	Recobro día 1 = 98.9	Recobro día 1 = 98.5
	Recobro día 2 = 99.8	Recobro día 2 = 100.5	Recobro día 2 = 100.0
	Recobro día 3 = 99.1	Recobro día 3 = 101.0	Recobro día 3 = 100.6
Criterios de aceptación	CV < 5.0%		
	% recobro = 95.0 – 105.0%		

Tabla 16. Evaluación de la Precisión intermedia (días) del método analítico "Determinación de la osmolalidad de Transferon®".

Precisión intermedia – Analistas.

Se evaluó la consistencia de datos por el análisis de tres diluciones 90%, 60% y 30% de IFA por sextuplicado en tres días distintos y por dos analistas diferentes, se calculó coeficiente de variación (CV) y % de recobro de cada dilución evaluada, obteniéndose los siguientes resultados. Se calculó coeficiente de variación (CV) y % de recobro de cada dilución evaluada, obteniéndose los siguientes resultados.

Muestra Medición	Dilución 90% IFA (mOsm/kg)	Dilución 60% IFA (mOsm/kg)	Dilución 30% IFA (mOsm/kg)
Analista 1	137.0	95.0	48.0
	144.0	94.0	47.0
	133.0	95.0	47.0
	145.0	96.0	48.0
	144.0	96.0	48.0
	144.0	95.0	46.0
Analista 2	144.0	96.0	48.0
	138.0	96.0	46.0
	144.0	94.0	48.0
	143.0	96.0	48.0
	140.0	96.0	46.0
	136.0	94.0	48.0
Promedio	Promedio A 1: 141.1	Promedio A 1: 95.1	Promedio A 1: 47.3
	Promedio A 2: 140.8	Promedio A 2: 95.3	Promedio A 2: 47.3
DE	DE A 1= 4.5	DE A 1= 0.6	DE A 1= 0.7
	DE A 2= 3.0	DE A 2= 0.94	DE A 2= 0.9
CV (%)	CV A 1= 3.1	CV A 1= 0.6	CV A 1= 1.4
	CV A 2= 2.1	CV A 2= 0.9	CV A 2= 1.9
Valor teórico	144.2	96.1	48.0
Recobro (%)	Recobro A 1 = 97.8	Recobro A 1 = 98.9	Recobro A 1 = 98.5
	Recobro A 2 = 97.6	Recobro A 2 = 99.1	Recobro A 2 = 98.5



Criterios de aceptación	CV < 5.0%
	% recobro = 95.0 – 105.0%

Tabla 17. Evaluación de la Precisión intermedia (analistas) del método analítico "Determinación de la osmolalidad de Transferon®".

Estabilidad de la muestra.

Se evaluó la determinación de la estabilidad de la muestra a diferentes tiempos, utilizando del IFA en tres niveles de concentración 90%, 60% y 30% y evaluar por triplicado a 0h, 24h y 196h, se calculó el coeficiente de variación (CV) y % de recobro de cada dilución evaluada, obteniéndose los siguientes resultados.

Muestra Medición	Dilución 90% IFA (mOsm/kg)	Dilución 60% IFA (mOsm/kg)	Dilución 30% IFA (mOsm/kg)
Tiempo 0h	137.0	95.0	48.0
	144.0	94.0	47.0
	133.0	95.0	47.0
Tiempo 24h	144.0	97.0	49.0
	144.0	97.0	48.0
	144.0	96.0	48.0
Tiempo 196h	144.0	95.0	49.0
	145.0	95.0	47.0
	144.0	97.0	49.0
Promedios	Promedio Tiempo 0 h: 138.0	Promedio Tiempo 0 h: 94.6	Promedio Tiempo 0 h: 47.3
	Promedio tiempo 24 h: 144.0	Promedio tiempo 24 h: 96.6	Promedio tiempo 24 h: 48.3
	Promedio tiempo 196 h: 144.3	Promedio tiempo 196 h: 95.6	Promedio tiempo 196 h: 48.3

DE	DE tiempo 0 h = 4.5	DE tiempo 0 h = 0.4	DE tiempo 0 h = 0.4
	DE tiempo 24h = 0.0	DE tiempo 24h = 0.4	DE tiempo 24h = 0.4
	DE tiempo 196 h = 0.4	DE tiempo 196 h = 0.9	DE tiempo 196 h = 0.9
CV (%)	CV tiempo 0 h = 3.2	CV tiempo 0 h = 0.4	CV tiempo 0 h = 0.8
	CV tiempo 24h = 0.0	CV tiempo 24h = 0.4	CV tiempo 24h = 0.8
	CV tiempo 196 h = 0.2	CV tiempo 196 h = 0.9	CV tiempo 196 h = 1.8
Valor teórico	144.2	96.1	48.0
Recobro (%)	Recobro tiempo 0 h = 95.7	Recobro tiempo 0 h = 98.4	Recobro tiempo 0 h = 98.5
	Recobro tiempo 24h = 99.8	Recobro tiempo 24h = 100.5	Recobro tiempo 24h = 100.6
	Recobro tiempo 196 h = 100.0	Recobro tiempo 196 h = 99.4	Recobro tiempo 196 h = 100.6
Criterios de aceptación	CV < 5.0%		
	% recobro = 95.0 – 105.0%		

Tabla 18. Evaluación de la Estabilidad de la muestra (tiempos) del método analítico “Determinación de la osmolalidad de Transferon®”.

Además, se evaluó la determinación de la estabilidad después por triplicado a tiempo 0 después de un ciclo de congelación y después de dos ciclos de congelación. Se calculó el coeficiente de variación (CV) y % de recobro de cada dilución evaluada.

Medición \ Muestra	T(0) IFA (mOsm/kg)	1 ciclo de congelación IFA (mOsm/kg)	2 ciclos de congelación IFA (mOsm/kg)
1	160.0	161.0	161.0
2	162.0	161.0	161.0
3	161.0	161.0	162.0
Promedio	161.0	161.0	161.3

DE	0.8	0.0	0.4
CV (%)	0.4	0.0	0.2
Valor teórico	144.2	96.1	48.0
Recobro (%)	100.4	100.4	100.6
Criterios de aceptación	CV < 5.0%		
	% recobro = 95.0 – 105.0%.		

Tabla 19. Evaluación de la Estabilidad de la muestra (ciclos de congelación) del método analítico "Determinación de la osmolalidad de Transferon®".

Robustez.

Se evaluó la consistencia del método analítico a diferentes condiciones de almacenamiento de la muestra, a diferentes temperaturas. Se determina a partir de las mediciones por triplicado del IFA a tres diferentes temperaturas 18°C, 10°C y 3°C.

Muestra / Medición	18°C IFA (mOsm/kg)	10°C IFA (mOsm/kg)	3°C IFA (mOsm/kg)
Primera Medición (mOsm/kg)	159.0	160.0	158.0
Segunda Medición (mOsm/kg)	160.0	160.0	160.0
Tercera Medición (mOsm/kg)	160.0	160.0	160.0
Promedio (mOsm/kg)	159.6	160	159.3
DE (mOsm/kg)	0.4	0.0	0.9
CV (%)	0.2	0.0	0.5
Valor teórico	144.2	96.1	48.0
Recobro (%)	99.5	99.8	99.3
Criterio de aceptación	CV < 5.0%		
	% recobro = 95.0 – 105.0%.		

Tabla 20. Evaluación de la Robustez del método analítico "Determinación de la osmolalidad de Transferon®".

A continuación se presenta un dictamen de criterios de aceptación del método analítico “Determinación de la osmolalidad de Transferon®”.

Tabla 21. Dictamen de atributos de medición del método analítico “Determinación de la osmolalidad de Transferon®”.

No.	Atributo de medición	Parámetro por evaluar	Criterio de aceptación	Resultado	Dictamen
1	Adecuabilidad al sistema	Coefficiente de variación (CV).	$CV \leq 10.0\%$	CV= 0.0	CUMPLE
		Promedio	50.0 ± 2.0 mOsm/kg	Promedio= 51.0 mOsm/kg	CUMPLE
2	Linealidad al sistema	Promedio del coeficiente de correlación (r^2)	$r^2 \geq 0.95$	Promedio r^2 0.99	CUMPLE
3	Especificidad del método	Promedio	Osmolalidad Agua tipo I ≤ 10.0 mOsm/kg	Osmolalidad Agua tipo I= 0.0 mOsm/kg	CUMPLE
			Osmolalidad Agua grado inyectable ≤ 10.0 mOsm/kg	Osmolalidad Agua grado inyectable = 0.0 mOsm/kg	CUMPLE
			Osmolalidad PT > 20.0 mOsm/kg	Osmolalidad PT = 74.0 mOsm/kg	CUMPLE
			Osmolalidad IFA > 20.0 mOsm/kg	Osmolalidad IFA= 160.3 mOsm/kg	CUMPLE
4	Linealidad del método	Promedio del coeficiente de correlación (r^2)	$r^2 \geq 0.95$	Promedio r^2 0.99	CUMPLE
5	Exactitud del método	Porcentaje de recobro (% recobro)	% recobro = 95.0 – 105.0%	% recobro 90%= 100.0%	CUMPLE
				% recobro 60% = 99.4%	
				% recobro 30% = 98.5%	

No.	Atributo de medición	Parámetro por evaluar	Criterio de aceptación	Resultado	Dictamen
6	Repetibilidad	<ul style="list-style-type: none"> CV IFA al 90% CV IFA al 60% CV IFA al 30% 	CV ≤ 5.0%	CV 90%= 3.1	CUMPLE
				CV 60%= 0.6	
				CV 30%= 1.4	

7	Precisión intermedia – 3 días distintos	<ul style="list-style-type: none"> CV IFA al 90% (Día 1 ,2 y 3) CV IFA al 60% (Día 1 ,2 y 3) CV IFA al 30% (Día 1 ,2 y 3) 	CV ≤ 5.0%	Dilución 90 % CV día 1= 3.1 % CV día 2= 0.6 % CV día 3= 0.5 %	CUMPLE
				Dilución 60 % CV día 1= 0.6 % CV día 2= 0.4 % CV día 3= 1.6 %	CUMPLE
				Dilución 30 % CV día 1= 1.4 % CV día 2= 1.0 % CV día 3= 0.8 %	CUMPLE

				<p>Dilución 90%</p> <p>Recobro día 1 = 97.8 %</p> <p>Recobro día 2 = 99.8 %</p> <p>Recobro día 3 = 99.1%</p>	CUMPLE
		<ul style="list-style-type: none"> • Recobro IFA al 90% (Día 1 ,2 y 3) • Recobro IFA al 60% (Día 1 ,2 y 3) • Recobro IFA al 30% (Día 1 ,2 y 3) 	% recobro = 95.0 – 105.0 %	<p>Dilución 60 %</p> <p>Recobro día 1 = 98.9%</p> <p>Recobro día 2 = 100.5%</p> <p>Recobro día 3 = 101.0%</p>	CUMPLE
				<p>Dilución 30 %</p> <p>Recobro día 1 = 98.5 %</p> <p>Recobro día 2 = 100.0 %</p> <p>Recobro día 3 = 100.6 %</p>	CUMPLE

No.	Atributo de medición	Parámetro por evaluar	Criterio de aceptación	Resultado	Dictamen	
8	Precisión intermedia – Distintos analistas	<ul style="list-style-type: none"> CV IFA al 90% (Analista 1, 2) CV IFA al 60% (Analista 1, 2) CV IFA al 30% (Analista 1, 2) 	CV < 5.0%	Dilución 90% CV analista 1= 3.1 % CV analista 2= 2.1%	CUMPLE	
				Dilución 60% CV analista 1= 0.6 % CV analista 2= 0.9 %	CUMPLE	
				Dilución 30% CV analista 1= 1.4 % CV analista 2= 1.9 %	CUMPLE	
			<ul style="list-style-type: none"> Recobro IFA al 90% (Analista 1, 2) Recobro IFA al 60% (Analista 1, 2) Recobro IFA al 30% (Analista 1, 2) 	% recobro = 95.0 – 105.0 %	Dilución 90% Recobro analista 1 = 97.8 % Recobro analista 2 = 97.6 %	CUMPLE
					Dilución 60% Recobro analista 1 = 98.9 % Recobro analista 2 = 99.1 %	CUMPLE
					Dilución 30% Recobro analista 1 = 98.5 % Recobro analista 2 = 98.5 %	CUMPLE

9	Estabilidad de la Muestra – Ciclos de congelación/descongelación	<ul style="list-style-type: none"> • CV C1 (100%). • % recobro C1 (100%). 	CV < 5.0 % recobro = 95.0 – 105%	CV C1 = 0.0% % recobro C1 = 100.4 %	CUMPLE
		<ul style="list-style-type: none"> • CV C2 (100%). • % recobro C2 (100%). 	CV < 5.0 % recobro = 95.0 – 105.0%	CV C2 = 0.2% % recobro C2 = 100.6 %	CUMPLE

No.	Atributo de medición	Parámetro por evaluar	Criterio de aceptación	Resultado	Dictamen
10	Estabilidad de la Muestra – Refrigeración	<ul style="list-style-type: none"> • CV 24h (90%, 60% y 30%). • % recobro 24h (90% , 60% y 30%).). 	CV < 5.0% % recobro = 95.0 – 105.0%	Dilución 90 % CV tiempo 24h= 0.0% Recobro t24h = 99.8 %	CUMPLE
				Dilución 60 % CV t24h= 0.4 % Recobro t24h = 100.5%	
	<ul style="list-style-type: none"> • CV 196h (90%, 60% y 30%). • % recobro 196h (90% , 60% y 30%).). 	CV < 5.0% % recobro = 95.0 – 105.0%	Dilución 30 % CV t24h= 0.8 % Recobro t24h = 100.6 %		
		<ul style="list-style-type: none"> • CV 196h (90%, 60% y 30%). • % recobro 196h (90% , 60% y 30%).). 	CV < 5.0% % recobro = 95.0 – 105.0%	Dilución 90% CV t196h=0.2% Recobro t196h = 100.0 %	CUMPLE

				Dilución 60 % CV tiempo 196h= 0.9 % Recobro tiempo 196h = 99.4%	
				Dilución 30 % CV t196h= 1.6 % Recobro t196h = 100.6 %	
11	Robustez	<ul style="list-style-type: none"> • CV 18°C (100%). • % recobro 18°C (100%) 	CV < 5.0% % recobro = 95.0 – 105%	CV 18° = 0.2% % recobro 18°C = 99.5%	CUMPLE
		<ul style="list-style-type: none"> • CV 10°C (100%). • % recobro 10°C (100%) 	CV < 5.0% % recobro = 95.0 – 105.0%	% recobro 10°C = 99.8% CV 10°C = 0.0%	CUMPLE
		<ul style="list-style-type: none"> • CV 3°C (100%). • % recobro 3°C (100%) 	CV < 5.0% % recobro = 95.0 – 105.0%	CV 3° = 0.5% % recobro 3°C = 99.3%	CUMPLE

Muestras Analizadas

En las siguientes tablas se muestran los resultados obtenidos de la evaluación de los lotes evaluados asociadas a su correspondiente gráfico.

Año	Descripción	Medición 1 (mOsm/kg)	Medición 2 (mOsm/kg)	Medición 3 (mOsm/kg)	Promedio (mOsm/kg)
2019	Transferon® PT Lote 19J21	74.0	74.0	74.0	74.0
	Transferon® PT Lote 19J22	75.0	75.0	74.0	74.6
	Transferon® PT Lote 19J23	76.0	76.0	76.0	76.0
	Transferon® PT Lote 19K24	73.0	72.0	72.0	72.3
	Transferon® PT Lote 19K25	76.0	76.0	77.0	76.6
					Promedio general 74.7 mOsm/kg
					DE 1.5 mOsm/kg

Tabla 22. Valores de osmolalidad de lotes de PT de Transferon®.

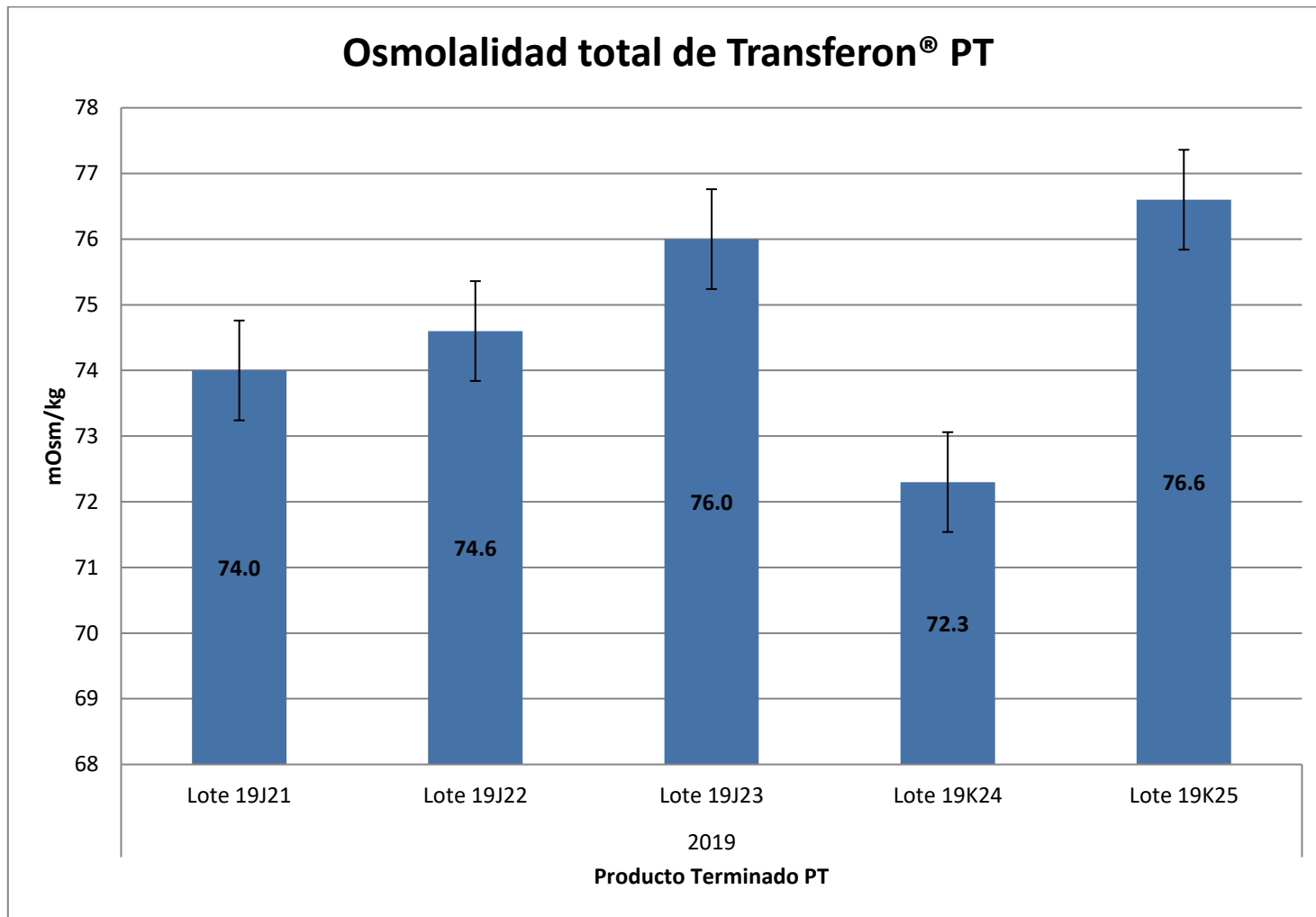


Gráfico 3. Valores de osmolalidad de lotes de PT de Transferon®.

Año	Descripción	Medición 1 (mOsm/kg)	Medición 2 (mOsm/kg)	Medición 3 (mOsm/kg)	Promedio (mOsm/kg)
2019	Transferon® IFA Lote 19J21	160.0	160.0	161.0	160.3
	Transferon® IFA Lote 19J22	155.0	154.0	154.0	154.3
	Transferon® IFA Lote 19J23	160.0	162.0	161.0	161.0
	Transferon® IFA Lote 19K24	165.0	166.0	166.0	165.6
	Transferon® IFA Lote 19K25	160.0	160.0	160.0	160.0
					Promedio general 160.2 mOsm/kg
					DE 3.5 mOsm/kg

Tabla 23. Valores de osmolalidad de lotes de IFA de Transferon®.

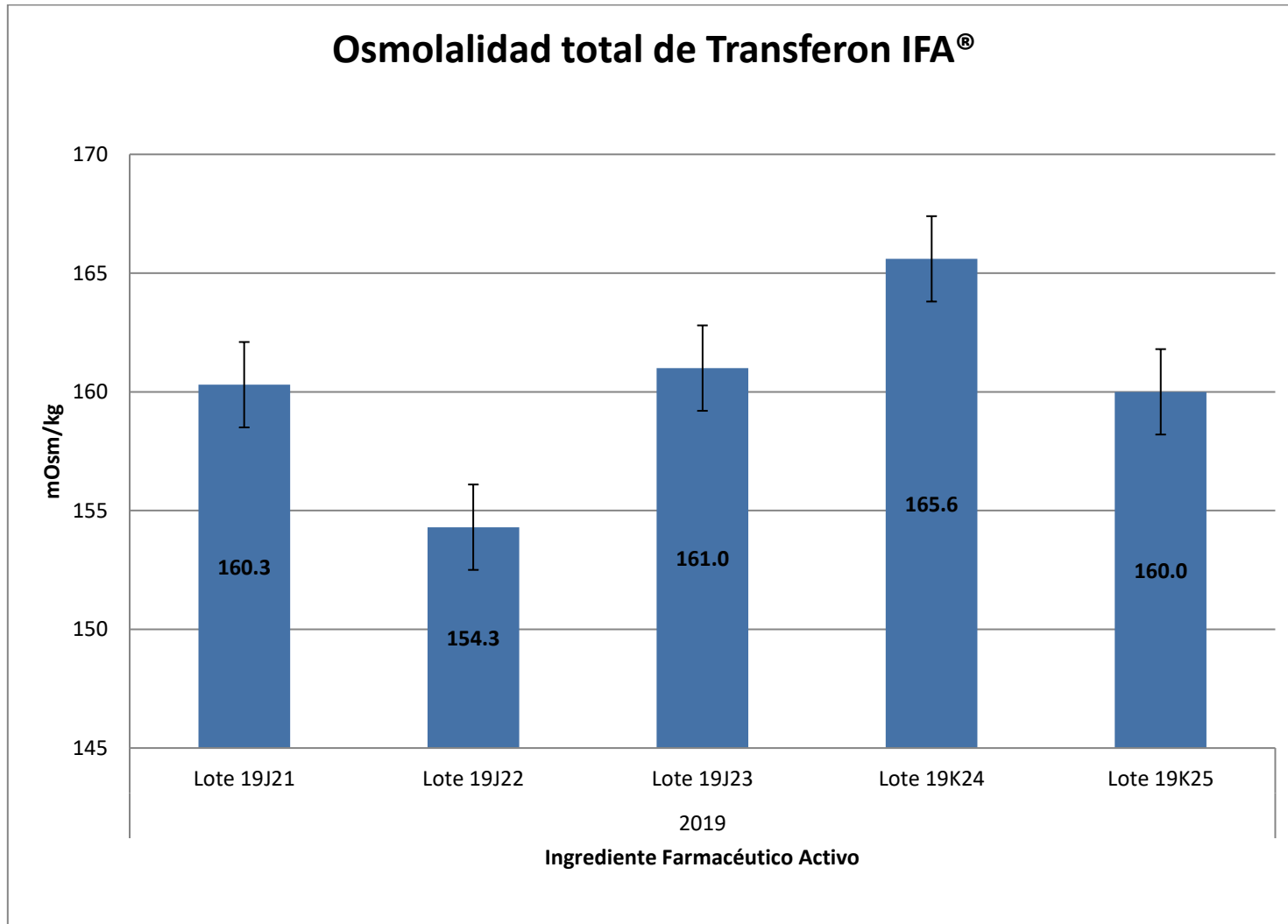


Gráfico 4. Valores de osmolalidad de lotes de IFA de Transferon®

9. Discusión.

Transferon[®], es un extracto dializable de leucocitos humanos (hDLE), es obtenido a partir de la sangre de donadores sanos, tiene una aplicación como modulador de la respuesta inmune en diversas patologías como alergias, enfermedades de origen infeccioso y autoinmidades (Medina-Rivero et al., 2014).

La osmolalidad es una característica fisicoquímica que puede ser determinada en diversos productos farmacéuticos de amplio impacto en la sociedad como es el caso de soluciones orales, oftálmicos, inyectables, entre otros (Castellano, 2010).

La determinación de la osmolalidad en Transferon[®] permite determinar el contenido de los solutos totales de este producto farmacéutico, así como la apreciación de características generales del proceso, la consistencia de lote a lote de fabricación, y el monitoreo continuo del mismo, con el fin de asegurar la calidad del producto.

Se realiza la estandarización del método analítico con el fin de delimitar el rango de trabajo del producto Transferon[®], para adecuar los distintos atributos de desempeño evaluados durante la validación, empleándose el lote 18J27 para PT, obteniéndose un valor promedio de 62.6 mOsm/kg, asociado con un coeficiente de variación CV de 0.4%. Para la estandarización del IFA se emplea el lote 18A02 obteniéndose un valor promedio de 180.6 mOsm/kg, asociado con un coeficiente de variación de 0.4%. Una vez obtenido los valores de PT e IFA, se logró estructurar el rango de trabajo, para la evaluación de parámetros como linealidad al sistema, estableciendo un rango de trabajo de 50.0 mOsm/kg -250 mOsm/kg.

El método analítico y su validación es útil para PT como para IFA de Transferon[®], dado que las condiciones de fabricación del producto el PT es una dilución del IFA en una proporción de 3:1 aproximadamente.

Para realizar la determinación de la osmolalidad, se debe validar el método analítico correspondiente para demostrar que el método es apto para el propósito previsto (ICH, 2015). La validación de métodos analíticos consiste en el proceso de ensayos de laboratorio que los atributos de desempeño del método analítico satisfacen los requerimientos para los fines establecidos y confiere resultados confiables (USP, 2011)



Para el desarrollo de la validación de métodos analíticos fueron tomados en cuenta el documento nacional; la FEUM, en el apartado del anexo 3; validación de métodos analíticos, así como documentos de carácter internacional tal es el caso de la guía *validation of analytical procedures: text and methodology ICH Q2 (R1)*, la USP, además de la guía emitida por la Organización Mundial de la Salud en la sección de validación de las practicas adecuadas de fabricación (PAF).

Los atributos de medición que se adecuan a la medición de la osmolalidad en el producto farmacéutico Transferon[®], basados en la revisión bibliográfica de documentos antes descritos fueron: adecuabilidad al sistema, linealidad al sistema, especificidad del método, linealidad del método, exactitud del método, repetibilidad, precisión intermedia (distintos días), precisión intermedia (distintos analistas), estabilidad de la muestra y robustez a la temperatura de la muestra, con un total de diez atributos de medición.

El primer atributo que se midió fue la adecuabilidad al sistema ya que tiene el objetivo de determinar el correcto funcionamiento del sistema analítico antes de su uso para verificar que los resultados obtenidos sean confiables, y determinar la presencia de factores que puedan inferir sobre la obtención de resultados, se obtuvo un coeficiente de variación CV de 0.0% lo que demuestra que el sistema es apto para la medición de muestras analíticas.

La medición de la linealidad al sistema tiene como propósito verificar que el incremento de la respuesta analítica sea proporcional en función de la osmolalidad de la muestra, dónde se obtuvo un coeficiente de correlación promedio r^2 de 0.99 de las curvas de calibración lo que demuestra que el sistema es lineal.

La especificidad del método determina la capacidad del método de determinar la presencia de solutos osmolalmente activos de muestras acuosas carentes de ellos. En este sentido, se determina la osmolalidad del excipiente de Transferon[®] (agua inyectable) y del agua MiliQ (blanco de corrida), y sus resultados se compararán con los de PT e IFA de Transferon[®], y se demostró que no hubo interferencia entre ellos.



La linealidad del método tiene el mismo propósito de la linealidad del sistema, sólo que la proporcionalidad de la respuesta se evalúa empleando IFA de Transferon® para descartar la presencia de solutos osmolalmente no activos, dónde se obtuvo un coeficiente de correlación promedio r^2 de 0.99 de las curvas de calibración lo que demuestra que el método es lineal. Se emplea IFA por que el PT consiste en una dilución de IFA con excipiente (agua inyectable) en una proporción aproximada de 3:1.

La exactitud del método verifica el grado de concordancia absoluta entre el resultado obtenido con el método y la cantidad verdadera del analito, dónde se evalúa el porcentaje de recobro obteniendo un porcentaje de recobro entre el 95.0% y 105.0% para las diluciones del IFA en tres niveles de concentración 90%, 60% y 30%, de acuerdo a la FEUM los resultados obtenidos cumplen con los criterios de aceptación para demostrar que el método es exacto.

La repetibilidad tiene como propósito determinar el grado de concordancia entre los resultados de una muestra en condiciones de rutina. Para ello, de acuerdo a la FEUM se determina el coeficiente de variación del análisis por sextuplicado de IFA en tres diferentes niveles de concentración (90%, 60%, y 30%) obteniendo un coeficiente de variación $CV \leq 5.0\%$ para cada dilución evaluada lo que demuestra que es repetible.

La precisión intermedia (distinto días), tiene el objetivo de determinar la precisión y exactitud de los datos obtenidos por un mismo analista durante 3 días distintos y por dos analistas el mismo día. Para ello se analizan por triplicado tres diluciones (90%, 60% y 30%) de IFA de Transferon® y se determina el coeficiente de variación (CV) y el % de recobro de cada dilución evaluada, obteniendo un coeficiente de variación promedio $CV \leq 5.0\%$ para cada dilución evaluada, y un porcentaje de recobro promedio entre el 95.0% y 105.0% para cada dilución evaluada, de acuerdo a la FEUM los resultados obtenidos cumplen con los criterios de aceptación para demostrar que el método es preciso y exacto en cualquier medición durante distintos días.



La precisión intermedia (distintos analistas), tiene el objetivo de determinar la precisión y exactitud de los datos obtenidos por un mismo analista durante 3 días distintos y por dos analistas el mismo día. Para ello se analizaron por triplicado tres diluciones (90%, 60% y 30%) de IFA de Transferon® y se determinará el coeficiente de variación (CV) y el % de recobro de cada dilución evaluada, obteniendo un coeficiente de variación promedio $CV \leq 5.0\%$ para cada dilución evaluada, y un porcentaje de recobro promedio entre el 95.0% y 105.0% para cada dilución evaluada, los resultados de ambos analistas se encuentran dentro de los criterios de aceptación previamente establecidos y de acuerdo a la FEUM los resultados obtenidos cumplen con los criterios de aceptación para demostrar que el método es preciso y exacto en cualquier medición durante distintos días y para distintos analistas. La importancia de la realización de esta prueba confiere que la muestra puede ser medida por otro analista y en diferentes horarios, en casos como cambio de jornada laboral, cambio de personal, o diferentes días de muestreo garantiza que el resultado emitido es confiable.

La estabilidad de la muestra este atributo evalúa la consistencia de las características fisicoquímicas de la muestra, ya que al ser de contenido proteico se puede degradar en distintas formas de almacenamiento en condiciones de refrigeración ($5 \pm 3^{\circ}\text{C}$) a través del tiempo. Para ello, se determina la precisión y exactitud de los valores de osmolalidad de tres niveles de concentración 90%, 60% y 30% por triplicado a las 0h y a las 196h. Para considerar la muestra estable se debe cumplir con los criterios de precisión y exactitud, obteniéndose un coeficiente de variación promedio $CV \leq 5.0\%$ para cada dilución evaluada, y un porcentaje de recobro promedio entre el 95.0% y 105.0% para cada dilución evaluada por lo que el método es preciso y exacto para la medición de la estabilidad de la muestra en condiciones de refrigeración al menos hasta las 196h que fue la evaluación. La importancia de la realización de esta prueba confiere a que ocurran fallas en el equipo, que la muestra no se sea procesada en tiempo y forma o cambio de jornada laboral, garantizando que el resultado será confiable al menos hasta el tiempo evaluado.



Siguiendo el mismo esquema, se determina la estabilidad de IFA al 100% de Transferon® después de un ciclo de congelación-descongelación (-80°C, 4 h) / descongelación (TA, por 2 h), y después de dos ciclos de congelación-descongelación (-80°C, 4 h) / descongelación (TA, por 2 h), se evaluó los mismos criterios de aceptación de precisión y aceptación obteniéndose un coeficiente de variación promedio $CV \leq 5.0\%$ para ambos ciclos de congelación-descongelación, y un porcentaje de recobro promedio entre el 95.0% y 105.0% para ambos ciclos de congelación-descongelación, por lo que se demuestra que la medición de la muestra es preciso y exacto, además de demostrar estabilidad al menos hasta después de dos ciclos de congelación. La importancia de la realización de esta prueba confiere a demostrar la estabilidad del producto durante el proceso de transporte por parte del paciente, ya que la condición de almacenamiento del producto es de congelación (Medina-Rivero et al., 2016), si el transporte no se lleva adecuado de forma óptima con esta prueba se garantiza que el producto sigue teniendo la misma estabilidad, al menos durante dos ciclos de congelación.

La robustez a la temperatura de la muestra, este atributo determina la influencia de la temperatura de la muestra al momento de su lectura en los resultados de la medición de la osmolalidad. Para ello se determina la precisión y exactitud de los valores de osmolalidad de tres niveles de concentración 90%, 60% y 30% por triplicado, las muestras serán almacenadas en refrigeración y analizadas cuando alcancen una temperatura de: 18°C, 10°C y 3°C. Obteniéndose un coeficiente de variación promedio $CV \leq 5.0\%$ para cada dilución evaluada, y un porcentaje de recobro promedio entre el 95.0% y 105.0% para cada dilución evaluada por lo que el método es preciso y exacto para la medición de la osmolalidad a diversos cambios de temperatura en el presente caso a 18°C, 10°C y 3°C. Con la realización de esta prueba se garantiza que la muestra puede ser procesada para medir la osmolalidad en diferentes temperaturas, con un resultado confiable.

Se evaluaron un total de diez atributos de desempeño, (adecuabilidad del sistema, linealidad al sistema, especificidad, linealidad del método, exactitud del método, repetibilidad, precisión intermedia (días), precisión intermedia (analistas) estabilidad de la muestra y robustez), los cuales cumplieron con los criterios de aceptación que se establecieron previamente, los



resultados fueron plasmados en un dictamen de criterios de aceptación del método analítico correspondiente, por lo que el método se considera validado y puede ser empleado para la determinación de la osmolalidad de Transferon®.

Se evaluaron un total de 5 lotes de PT y 5 lotes de IFA de Transferon®, los cuales debían tener como criterio de inclusión al estudio que fueran de fabricación reciente y no estuvieran almacenados en otras condiciones de almacenamiento establecidas para el producto, para el caso de PT se obtuvieron valores de 72.3 mOsm/kg – 76.3 mOsm/kg, para el caso de IFA se obtuvieron valores de 160.0 mOsm/kg – 166.0 mOsm/kg, se tiene una variación mínima y asociada a que los paquetes celulares de los cuales se parten para la fabricación del producto no son homogéneos respecto al contenido de solutos totales (sales orgánicas, sales inorgánicas, glucosa y otros metabolitos), además de una variación regulada en el contenido de proteínas de los paquetes celulares (UDIMEB, 2018), dicha determinación fue realizada por un método de osmometría validado y empleado para el control de calidad rutinario de este producto farmacéutico.

Con base en la osmolalidad obtenida de los lotes evaluados se realizó un análisis estadístico obteniendo el promedio y la desviación estándar para valores de PT como IFA, estableciendo una propuesta de especificación de calidad para Transferon® que contempla el Promedio \pm 3DE. Para PT la especificación concreta en valores de 74.7 ± 4.5 mOsm/kg, en el caso de IFA la especificación concreta en valores de 160.2 ± 10.5 mOsm/kg, garantizando la calidad del producto.



10. Conclusiones

Se desarrollo el diseño jerarquerizado de un protocolo sustentado y acotado a un sistema de gestión de la calidad, en el cual se emitió un método analítico que sirvió para la determinación de la osmolalidad de Transferon[®], tanto para Producto Terminado como Ingrediente Farmacéutico Activo.

Se llevo a cabo la ejecución de la validación del método analítico, mostrando que los atributos evaluados (adecuabilidad del sistema, linealidad al sistema, especificidad, linealidad del método, exactitud del método, repetibilidad, precisión intermedia (días), precisión intermedia (analistas) estabilidad de la muestra y robustez), cumplieron con los criterios de aceptación establecidos, por lo que el método se considera validado y puede ser empleado en la ejecución del análisis de muestras.

Se reportaron los resultados de la validación en un reporte de protocolo de validación, así como el diseño, y la entrega de reportes analíticos, en los cuales se sustentan los resultados obtenidos a lo largo del desarrollo del protocolo.

Se determinó la osmolalidad en lotes de fabricación actual de 5 lotes producto terminado como de 5 lotes de ingrediente farmacéutico activo obteniendo un promedio 74.7 mOsm/kg para PT como 160.2 mOsm/kg para IFA.

Se estableció la propuesta de un parámetro de calidad para osmolalidad, con base en su análisis estadístico se determinó que será Promedio \pm 3DE, la cual establece un valor de 74.7 \pm 4.5 mOsm/kg para PT y 160.2 \pm 10.5 mOsm/kg para IFA.



11. Perspectivas

Con el respectivo método validado, se diseñará el protocolo de transferencia de tecnología de acuerdo a procedimientos internos en conjunto con el área de calidad del Laboratorio de Investigación Científica y se establecerán los procedimientos en su reporte de transferencia correspondiente.

Se ejercerá el análisis de la osmolalidad para PT e IFA de forma rutinaria por parte del área de fabricación, con el fin de monitorear el proceso de cuantificación de solutos totales y determinar la consistencia de lote a lote fabricado.

En base a la propuesta de un parámetro de calidad de la osmolalidad, determinar si existen variaciones a lo largo del proceso de producción de Transferon[®], para poder adicionarla como un parámetro determinante de liberación de lotes.



12. Apéndices.

Por motivos de confidencialidad no se pueden mostrar los documentos elaborados durante el desarrollo del protocolo de acuerdo al sistema de gestión de la calidad, pero se acota a mostrar la portada de los mismos como sustento de su realización.

Etapa I

-Protocolo General del proyecto con código interno P3/19/007.

-Oficio de aprobación por parte del Comité de Investigación de la UDIMEB (CIU).

UNIVERSIDAD DE QUIMICA Y BIOTECNOLOGIA (UDQ) - FICHA
Proyecto de Investigación: P3/19/007
Proyecto de Investigación: P3/19/007
Proyecto de Investigación: P3/19/007

DATOS DEL PROYECTO	
TITULO:	Determinación de la osmolalidad de Transferon® como parámetro de calidad
CODIGO DEL PROYECTO/PROTOCOLO:	P3/19/007
FECHA AUTORIZACION DEL PROTOCOLO POR EL CIU	01/Oct/2019; Oficio UDIMEB/0565/2019
FECHA DE AUTORIZACION DEL PROTOCOLO POR EL CEI	NA
PROTOCOLO VERSION Y FECHA:	Versión C; 01/OCT/2019.
DATOS DEL EQUIPO DE INVESTIGACION	
RESPONSABLE DEL ESTUDIO:	Dra. Sonia Mayra Pérez Tapa
INVESTIGADOR PRINCIPAL:	Dr. Luis Alberto Vallejo Castillo
INVESTIGADOR(ES) RESPONSABLE(S) DEL ENSAYO:	p. Q. F. B Eddy Noel Sánchez Galindo
RESPONSABLE DE ASEGURAMIENTO DE CALIDAD DE LA UDIBI:	QFB, Karla Lilian Bernal Pérez

Escuela Nacional de Ciencias Biológicas
Unidad de Investigación, Desarrollo e Innovación Médica y Biotecnológica

Folio
UDIMEB/0565/2019

Asunto
Evaluación del protocolo P3/19/007

"2019, Año del Cuadrado del Sur, Evelynne Zepeda"
"20 años de la Unidad Profesional Adolfo López Mateos"
"70 Aniversario del CIOyT No. 3 "Eduvanes Ramírez Ruiz"
"60 años de SEPES General Cervera, originalmente politécnico"
"60 Aniversario del CIOyT No. 4 "Lázaro Cárdenas"

COMX, 01 de octubre de 2019.

p. Q.F. B Eddy Noel Sánchez Galindo
Tesisista
Unidad de Desarrollo e Investigación en Bioprocesos (UDIBI)

PRESENTE

Por este medio, le comunico que el Comité de Investigación de la UDIMEB (CIU) en su sesión 85 analizó las correcciones al protocolo "Determinación de la osmolalidad de Transferon® como parámetro de calidad". En dicho proceso se determinó que todas las observaciones emitidas previamente por el CIU fueron consideradas y/o correctamente justificadas. Por este motivo se asigna el código "P3/19/007" y se emite un dictamen aprobatorio para su ejecución.

Sin más por el momento reciba un cordial saludo.

ATENTAMENTE
DR. LUIS A. VALLEJO CASTILLO
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE INVESTIGACIÓN DE LA UDIMEB

c.c.p. Archivo

Prologación de Carpio y Plan de Ayala s/n, Col. Santa Tomé, Alcaldía de Miguel Alemán, C.P., 11340, Ciudad de México
Teléfono 5729 6300, extensiones 46268 y 62493.
Correo electrónico: gov@udq.mx



Documento propiedad de UDQ. Prohibida su reproducción por cualquier medio para fines distintos para los cuales fue creado sin aprobación de UDQ por escrito.



Etapa II

-Método Analítico con código interno U043-MA.

-Formato de Reporte Analítico con código interno U043-RA.

 ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS UNIDAD DE INVESTIGACIÓN, DESARROLLO E INNOVACIÓN MÉDICA Y BIOTECNOLÓGICA UDIBI / SERVICIOS			
Código: U043-MA	Edición: A	Página 1 de 5	
DETERMINACIÓN DE LA OSMOLALIDAD DE TRANSFERON®			
REALIZÓ	REVISÓ	REVISÓ	AUTORIZÓ
Dr. Luis A. Valiño Castillo Responsable del Laboratorio de Cromatografía y Masas-Masas	QFB Saúl Karyum Vázquez Leyva Responsable de Servicios de Laboratorio	QFB María Lilian Serral Pérez Responsable de Aseguramiento de Calidad	Dra. Gabriela Meliádo Sánchez Responsable Sanitario de la UDIBI
FECHA DE EMISIÓN	FECHA DE VIGENCIA	PRÓXIMA REVISIÓN	

1. OBJETIVO

Dar a conocer la metodología a emplear para determinar la cantidad de solutos totales de Transferon® mediante osmometría.

2. ALCANCE

El presente documento aplica para el personal de la UDIBI que requiera determinar la osmolalidad de producto intermedio y producto terminado de Transferon®.

3. TIPO DE MÉTODO

FARMACOPEICO	FARMACOPEICO MODIFICADO	X	NO FARMACOPEICO
--------------	-------------------------	---	-----------------

4. TERMINOS Y DEFINICIONES



- **Molaridad:** Moles de soluto por kilogramo de disolvente puro.
- **Osmolalidad:** Osmoles de partículas de soluto por kilogramo de disolvente puro. La osmolalidad normalmente se expresa en mOsm/kg.
- **Molaridad:** Moles de soluto por litro de solución.
- **Osmolaridad:** Osmoles de partículas de soluto por litro de solución. La osmolalidad normalmente se expresa en mOsm/L.
- **Osmómetro:** Aparato que se empleaba para medir la presión osmótica entre una solución y un solvente en base a sus propiedades coligativas.

5. FUNDAMENTO

El método para determinar la osmolalidad de Transferon® se basa en la reducción del punto de congelación del agua. El punto de congelación es una propiedad coligativa que permite determinar fácilmente y con gran precisión la concentración de una solución dependiendo su variación. El

Documento propiedad de la UDIBI. Prohibida su reproducción por cualquier medio para fines distintos para los cuales fue creado sin la aprobación de la UDIBI por escrito.

CC31-FOR/C001-PRD

 ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS UNIDAD DE INVESTIGACIÓN, DESARROLLO E INNOVACIÓN MÉDICA Y BIOTECNOLÓGICA UDIBI / SERVICIOS			
Código: U043-RA	Edición: A	Fecha de vigencia:	Página 1 de 2
REPORTE ANALITICO			
No. REPORTE:			
FECHA DE EMISIÓN:			

1. INFORMACIÓN

METODO ANALITICO:	U043-MA. Determinación de la osmolalidad de Transferon®.
CODIGO DE LA MUESTRA:	
DESCRIPCION DE LA MUESTRA:	

2. ADECUABILIDAD DEL SISTEMA

Muestra	Mediciones (mOsm/kg)	Resultado	Criterio de aceptación	Cumplimiento
Estandar de 100 mOsm/kg	Réplica 1:	CV =	CV ≤ 10 %	
	Réplica 2:			
	Réplica 3:	Promedio =	Promedio: 100 ± 3 mOsm/kg	

3. DATOS CRUDOS Y PROCESAMIENTO

Se anexan tickets de los resultados emitidos por el equipo Osmometro Advanced instruments® 3250.

4. RESULTADOS

Descripción	Medición 1 (mOsm/kg)	Medición 2 (mOsm/kg)	Medición 3 (mOsm/kg)	Promedio (mOsm/kg)

5. ANEXOS

N/A

6. BIBLIOGRAFÍA

U043-MA. Determinación de la osmolalidad de Transferon®.

Documento propiedad de la UDIBI. Prohibida su reproducción por cualquier medio para fines distintos para los cuales fue creado sin la aprobación de la UDIBI por escrito.

ORIGEN: U043-RA



Etapa III

- Protocolo de validación del método analítico con código interno U043-PVA.
- Reporte de validación del método analítico con código interno U043-MA-RVA.



**PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO
U043-MA "DETERMINACIÓN DE LA OSMOLALIDAD DE TRANSFERON®"**

Código: U043-PVA

ELABORÓ	REVISÓ	REVISÓ	AUTORIZÓ
Dr. Luis Alberto Vallejo Castillo Responsable de Laboratorio de Cromatografía / Masas/Masas	Q.F.B. Saúl Kayum Vázquez Leyva Responsable de Servicios de Laboratorio	Q.F.B. Karla Lillian Bernal Pérez Responsable de Aseguramiento de Calidad	Dr. Georgeta Meléndez Sánchez Responsable Sanitario



REPORTE DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO

U043-MA "DETERMINACIÓN DE LA OSMOLALIDAD DE TRANSFERON®."

Código: U043-MA-RVA

ELABORÓ	REVISÓ	REVISÓ	AUTORIZÓ
Dr. Luis Alberto Vallejo Castillo Responsable de Laboratorio de Cromatografía / Masas/Masas	Q.F.B. Saúl Kayum Vázquez Leyva Responsable de Servicios de Laboratorio	Q.F.B. Karla Lillian Bernal Pérez Responsable de Aseguramiento de Calidad	Dr. Georgeta Meléndez Sánchez Responsable Sanitario

Etapa IV

- Reporte general del protocolo con código interno RG-043.

DATOS DEL PROYECTO	
TÍTULO:	Determinación de la osmolalidad de Transferon® como parámetro de calidad
CÓDIGO DEL PROYECTO/PROTOCOLO:	P3/19/007
CÓDIGO DEL REPORTE:	RG-043
FECHA AUTORIZACION PROYECTO CIU:	01/Oct/2019; Oficio UDIMEB/0565/2019
FECHA AUTORIZACION DEL PROYECTO CEI ENCB (EQUIVALENTE CICIAL):	NA
PROTOCOLO VERSION Y FECHA:	Versión C; 01/OCT/2019.
DATOS DEL EQUIPO DE INVESTIGACION	
RESPONSABLE DEL ESTUDIO:	Dra. Sonia Mayra Pérez Tapia
INVESTIGADOR PRINCIPAL:	Dr. Luis Alberto Vallejo Castillo
INVESTIGADOR(ES) RESPONSABLE(S) DEL ENSAYO:	p.Q.F.B Eddy Noel Sanchez Gallindo
RESPONSABLE DE ASEGURAMIENTO DE CALIDAD DE LA UDIBI:	Q.F.B. Karla Lillian Bernal Pérez



13. Referencias.

- Advance Instrument Company. (2008). *Osmómetro Advanced 3250*. Massachusetts, USA.
- Amo Fernández, F. (1995). Calidad total. *Anuario jurídico y económico escurialense*, (28), 467–480.
- Anderson, R. (2010). Directrices para la validación de métodos analíticos y la calibración del equipo utilizado para el análisis de drogas ilícitas en materiales incautados y especímenes biológicos. *Unodc*, 1, 13–68. <https://doi.org/ST/NAR/41>
- Barwick, V., Morillas Bravo, P. P., Ellison, S. L. R., Engman, J., Gjengedal, E. L. F., Lund, U. O., ... Ömeroglu, P. Y. (2016). La Adecuación al Uso de los Métodos Analíticos – Una Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados. En B. Magnusson & U. Örnemark (Eds.), *Guía Eurachem*. Recuperado de https://eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV_guide_2nd_ed_ES.pdf
- Brunton, L. (2006). Goodman & Gilman ' s The Pharmacological Basis of Therapeutics. *Goodman & Gilman' s The Pharmacological Basis of Therapeutics*, pp. 9–10. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Castellano, P. (2010). Control de la calidad en la industria farmacéutica. *Análisis de Medicamentos*.
- Consideraciones para la mejora de los sistemas de gestión de la calidad en la Industria Biofarmacéutica. (2010). *VacciMonitor*, 19(3), 30–38.
- Convención de Farmacopea de los Estados Unidos. (2007). Capítulo General <1225> Validación de procedimientos farmacopeicos. *Farmacopea de los Estados Unidos de América (USP 36) y Formulario Nacional (NF 31)*, 793–796.
- Dossabhoy, N. R. (2018). *The Value of Osmolality Testing* (pp. 1–4). pp. 1–4. Recuperado de <https://resources.aicompanies.com/assets/2018/09/The-Value-of-Osmolality-Testing-Dossabhoy-M.D..pdf>



- Dufour, R. (1993). *Osmometry, The rational basis for use of an underappreciated diagnostic tool*. Recuperado de <https://www.aicompanies.co.uk/assets/2015/12/Osmometry.pdf>
- García Aponte, O. F., Vallejo Díaz, B. M., & Mora Huertas, C. E. (2015). La calidad desde el diseño: principios y oportunidades para la industria farmacéutica. *Estudios Gerenciales*, 31(134), 68–78. <https://doi.org/10.1016/j.estger.2014.09.005>
- García, M. P. (2009). La Industria Farmacéutica en México. *Bol. Soc. Quím. Méx*, 3(1), 30–31. Recuperado de <http://bsqm.org.mx/pdf-boletines/V3/N1/06-Maricela Plascencia Garcia.pdf>
- Guideline, I. C. H. H. T. (2005). Validation of analytical procedures: text and methodology Q2 (R1). *IFPMA: Geneva*.
- ICH. (2015). ICH Harmonized Tripartite Guideline Validation of Analytical Procedures: En *Federal Register*, Vol. 62, No. 96. Recuperado de https://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1_Guideline.pdf
- International Standard Organization. (2008). ISO 9001 Quality management systems- Requirements. *International Standard*, 2008, 26.
- Lobdell, D. H. M. D. (2007). *A Practical Guide to Its Clinical Use* (pp. 4–18). pp. 4–18. Recuperado de <http://www.osmolality.com/pdf/Lobdell - Osmo Revisit.pdf>
- Lord, R. C. C. (1999). Osmosis, osmometry, and osmoregulation. *Postgraduate Medical Journal*, 75(880), 67 LP – 73. <https://doi.org/10.1136/pgmj.75.880.67>
- Medina-Rivero, E., Merchand-Reyes, G., Pavón, L., Vázquez-Leyva, S., Pérez-Sánchez, G., Salinas-Jazmín, N., ... Pérez-Tapia, S. M. (2014). Batch-to-batch reproducibility of Transferon™. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 88, 289–294. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2013.09.004>
- Medina-Rivero, E., Vallejo-Castillo, L., Vázquez-Leyva, S., Pérez-Sánchez, G., Favari, L., Velasco-Velázquez, M., ... Pérez-Tapia, S. M. (2016). Physicochemical Characteristics of Transferon™ Batches. *BioMed Research International*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/7935181>



- MINSA. (2005). Guía de validación de métodos analíticos. *Registro de productos de interés sanitario*, 1–18. Recuperado de <https://www.ministeriodesalud.go.cr/index.php/biblioteca-de-archivos/tramites/registro-de-productos-de-interes-sanitario/medicamentos-1/documentos-de-interes-3/guias-de-registro-medicamentos/2472-guia-de-validacion-de-metodos-analiticos/file>
- Mora Huertas, C. (2009). “Nuevos enfoques” de las Buenas Prácticas de Manufactura. *Revista Colombiana de Ciencias Químico - Farmacéuticas*.
- Pérez, J. A. G., & Trejo, F. E. M. (2005). Métodos Analíticos Adecuados a Su Propósito. En *Centro Nacional de Metrología*. Recuperado de http://www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/pluginfile.php/119370/mod_resource/content/1/Eurachem-Guia-Validacion-CNM-MRD-030-2da-Ed.pdf
- Robles Belmont, E., Medina-Molotla, N., & Pineda-Almanza, C. D. (2017). Las bondades de Transferón. En *Las vicisitudes de la innovación en biotecnología y nanotecnología en México* (pp. 83–109). UAM, ITACA.
- Secretaría de Salud. (2019a). Anexo III. Apartado validación de métodos analíticos. En *Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos FEUM* (12 edición, Vol. 1, pp. 894–896). México.
- Secretaría de Salud. (2019b). MGA 0621. En *Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos* (12 edición). México.
- Sociales, I. N. de S. e H. en el T. de T. y A. (1998). Industria Farmacéutica. *Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo*, 20. Recuperado de <http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/TextosOnline/EnciclopediaOIT/tomo3/79.pdf>
- Teeluckdharry, K. (2008). ISO 9000: Quality Systems Handbook. *Biomedical Instrumentation & Technology*, 42(1), 23–23. [https://doi.org/10.2345/0899-8205\(2008\)42\[23:iqsh\]2.0.co;2](https://doi.org/10.2345/0899-8205(2008)42[23:iqsh]2.0.co;2)
- Trujillo Lozano, T. L. (2015). DESARROLLO Y VALIDACION DE UNA TECNICA ANALITICA POR CROMATOGRAFIA DE GASES PARA LA DETERMINACION DE ACIDOS



GRASOS TRANS EN SNACKS SALADOS, COBERTURA DE CHOCOLATE Y SUS PROBABLES COMPONENTES. *Repositorio de Tesis UCSM*, 123.

U. S. Food and Drug Administration/Center for Biologics Evaluation and Research. (1995). Guideline for Industry: Text on Validation of Analytical Procedures (ICH-Q2A). *Food and Drug Administration*, (March), 1–9. Recuperado de <https://www.fda.gov/ucm/groups/fdagov-public/@fdagov-drugs-gen/documents/document/ucm073381.pdf>

UDIMEB. (2018). *Cuantificación de aniones y cationes inorgánicos en muestras de producto terminado e intermedio de Transferon*. México.

USP. (2011). Validation of compendial procedures. *Usp*, <1225> *USP*, 778–782.

