

00524
113



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE QUIMICA

ELABORACION DE UN PLAN MAESTRO PARA LA
VALIDACION DE METODOS ANALITICOS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

P R E S E N T A :

JESSICA / MONROY MONDRAGON

MEXICO, D.F.



2003

**EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUIMICA**





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.

PAGINACION

DISCONTINUA

Journal of Management Studies
Volume 45, Number 1, 2012

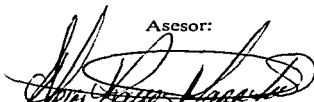
JURADO ASIGNADO:

Presidente: Prof. M. en C. Norma Trinidad González Monzón.
Vocal: Prof. M. en C. María del Socorro Alpizar Ramos.
Secretario: Prof. M. en C. José Manuel Morales Hernández.
1er. Suplente: Prof. M. en C. Ricardo Rodríguez Saenz.
2do. Suplente: Prof. QFB. Raúl Lugo Villegas.

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:


El presente trabajo de tesis profesional se realizó en la Facultad de Química, de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Asesor:



M. en C. Ma. del Socorro Alpizar Ramos

Sustentante:



Jessica Mondragón Mondragón

DEDICATORIA

A la memoria de la Profa. Juanita Hernández (q.e.p.d.) porque gracias a ella, vi con amor la Química.

A mis padres Ma. Luisa Mondragón y J. Felipe Monroy Maldonado, mis hermanos Paola, Samantha y Luis Felipe; si bien no elegí mi familia, doy gracias a Dios por la fortuna de tenerlos a los cinco a mi lado.

Finalmente, me dedico esta tesis como un peldaño más que escalar en mi vida profesional y como una satisfacción personal.

Jessica Monroy Mondragón

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme la oportunidad de tener vida, pero más que eso de poderla vivir plenamente junto a las personas que amo y quiero.

A la UNAM, especialmente a la Facultad de Química por haber formado parte de una generación única (Generación 95), donde el grupo 14 fue reconocido en todo momento (arriba las bacantes). La garra de todos que la formamos es auténtica.

A mi mejor amiga y madre Ma. Luisa Mondragón por compartir su vida, alegría, tristeza, sobre todo su entereza ante los problemas. A mi papá Juan Felipe Monroy Maldonado por que es mi fuerza cuando me debilito, sus palabras me han ayudado a ver y entender muchas cosas. Los amo.

A mi hermana Paola por sus críticas, por escucharme y alentarme, a Samy por su ternura y alegría, a Pipe por ser mi bebé y el angelito que nos envió Dios.

A mi abuelita Esperanza por estar con nosotros y a mi abuelita Margarita * que en sueños me ayuda a encontrar la paz.

A la profa. Socorro por su gran apoyo en mi formación, al QFB. Ramón Rodríguez también mi profesor actual, porque ya entendí que la estadística es hermosa sólo hay que encontrar su mejor cara.

A ti Oscar te agradezco infinitamente por todo lo que me has dado y comparte este trabajo porque es tuyo también, tu empuje, tus presiones, todo lo bueno, lo malo no me sirve, sabes que 9 años dicen mucho y que el tiempo es nuestro aliado, te quiero mucho.

A mis mejores amigos Verito, (13 años amiga y seguimos duro), Richard (mi maestro en validación y mi manito del alma), a las soñadoras de la fac. por las grandes pachangas celebradas y las lágrimas derramadas, a las chicas superpoderosas (actuales amigas y guerreras en esta batalla), a rastaman porque la buena vibra este siempre conmigo, nunca cambies, te quiero mucho. Mil gracias a cada uno de ustedes porque son parte de mi vida.

***“ Es peligroso vivir de la memoria, del pasado.
Sólo el presente está vivo. Es el ahora lo que importa,
porque ahora es la vida,
ahora todo es posible, ahora es la realidad .”***

Anthony de Mello.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL	i
ÍNDICE DE TABLAS	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
DEFINICIONES Y NOMENCLATURA.....	v
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS.....	3
CAPÍTULO 1. Métodos Analíticos.	
1.1 ¿Qué es un método analítico?.....	4
1.2 Categorías de métodos analíticos.....	5
1.3 Parámetros de desempeño.....	10
CAPÍTULO 2. Validación de Métodos Analíticos.	
2.1 ¿Para qué y por qué validar un método analítico?.....	19
2.2 Criterios de aceptación.....	29



ÍNDICE GENERAL (Continuación)

CAPÍTULO 3. Plan Maestro de Validación de Métodos Analíticos.

3.1 Definición de un Plan Maestro de Validación de Métodos Analíticos.....	33
3.2 Elementos para la elaboración de un PMVMA.....	35
3.3 Regulación.....	39

CAPÍTULO 4. Elaboración del PMVMA.

4.1 Ciclo de vida de Validación de Métodos Analíticos	46
4.2 Formato de Protocolo y Reporte de VMA	47
4.3 Lista de productos farmacéuticos para validar en el período 2003-2004... ..	71

CAPÍTULO 5. Conclusiones y Recomendaciones..... 74

BIBLIOGRAFÍA..... 76

APÉNDICE (Anexo de Fórmulas)..... 78



ÍNDICE DE TABLAS

TABLA	CONTENIDO	
TABLA 1.1	Matriz de equivalencia de métodos analíticos.....	9
TABLA 1.2	Clasificación de métodos analíticos en función de su propósito.....	15
TABLA 1.3	Clasificación de métodos analíticos por categorías.....	16
TABLA 1.4	Clasificación de métodos analíticos de acuerdo a la ICH.....	17
TABLA 1.5	Parámetros de desempeño a evaluar de acuerdo a la naturaleza del método analítico (FDA DRAFT 2000).....	18
TABLA 2.1	Criterios de aceptación en exactitud y repetibilidad al 100 %.....	30
TABLA 4.1	Revalidación de métodos analíticos	71
TABLA 4.2	Productos Farmacéuticos para el periodo 2003-2004.....	72-73

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	CONTENIDO	
FIGURA 2.1	Jerarquía de la metodología analítica.....	21
FIGURA 2.2	Concepto básico del proceso de validación.....	22
FIGURA 2.3	Proceso de prueba colaborativa.....	25
FIGURA 2.4	Proceso general para evaluación /validación de metodología.....	26
FIGURA 3.1	Proyecto de validación.....	36- 37
FIGURA 4.1	Ciclo de vida de validación de métodos analíticos	46

1. **Adecuabilidad del Sistema:** Verificación de que el sistema (instrumento, analista, equipo, sustancia de referencia, entre otros) opera con base a criterios preestablecidos, que permitan asegurar la confiabilidad de los resultados de un método analítico.
2. **Analito:** Componente específico de una muestra, a medir en un análisis.
3. **Calibración:** Conjunto de operaciones que determinan, bajo condiciones especificadas, la relación entre los valores indicados por un instrumento o sistema de medición, o los valores representados por una medición material y los valores conocidos correspondientes a un patrón de referencia.
4. **Documentación:** Conjunto de información que sustenta una actividad realizada.
5. **Especificaciones:** Descripción del materia, sustancia o producto, que incluye la definición de sus propiedades y características, con las tolerancias de variación de los parámetros de calidad.
6. **Especificidad:** Es la medida del grado de interferencia (o ausencia de), en el análisis de mezclas complejas. Es la habilidad de un método analítico para obtener una respuesta debida únicamente a la sustancia de interés y no a otros componentes de la muestra.
7. **Estudio colaborativo:** Reproducibilidad realizada en distintos laboratorios por diferentes químicos.
8. **Exactitud:** La exactitud de un método analítico es la concordancia entre un valor obtenido experimentalmente y el valor de referencia. Se expresa como el por ciento de recobro obtenido del análisis de muestras a las que se les ha adicionado cantidades conocidas de la sustancia.
9. **Estabilidad analítica de la muestra:** Propiedad de una muestra, preparada para su cuantificación, de conservar su integridad físicoquímica y la concentración del analito, después de almacenarse durante un tiempo determinado bajo condiciones específicas.
10. **Intervalo:** Concentraciones incluídas entre la concentración superior e inferior del analito (incluyendo éstas), para las cuales se ha demostrado que el método analítico es preciso, exacto y lineal.
11. **Límite de Cuantificación:** Es la menor concentración de la sustancia en una muestra que puede ser determinada con precisión y exactitud aceptables, bajo las condiciones de operación establecidas.
12. **Límite de Detección:** Es la mínima concentración de una sustancia en una muestra la cual puede ser detectada pero no necesariamente cuantificada, bajo las condiciones de operación establecidas.
13. **Linealidad:** Habilidad para asegurar que los resultados analíticos, los cuales pueden ser obtenidos directamente o por medio de una transformación matemática bien definida, sea proporcional a la concentración de la sustancia dentro de un rango determinado.

14. **Metodología de prueba:** Procedimiento o grupo de procedimientos, para determinar si un producto o materia prima cumple con las especificaciones establecidas.
15. **Método Analítico:** Descripción de la secuencia de actividades, recursos materiales y parámetros que se deben cumplir, para llevar a cabo el análisis de un componente específico de la muestra.
16. **Método Analítico Desarrollado Internamente:** Método desarrollado por el propio laboratorio.
17. **Método Analítico Indicativo de Estabilidad:** Método cuantitativo capaz de detectar variaciones en las propiedades del material evaluado, debidas a las condiciones de almacenaje.
18. **Método Analítico Oficial:** Método que aparece en la literatura oficial reconocida.
19. **Método Analítico No Oficial:** Método que no aparece en la literatura oficial reconocida.
20. **Muestra:** Porción del material a evaluar.
21. **Muestra Analítica:** Porción del material a evaluar de acuerdo al método analítico.
22. **Muestra Adicionada:** Porción representativa del material a evaluar, a la que se le adicionan cantidades conocidas del analito.
23. **Parámetros de desempeño:** Parámetro específico a estudiar en un protocolo de validación.
24. **Placebo Analítico:** Muestra que contiene todos los componentes de un producto a excepción del analito.
25. **Placebo Adicionado:** Muestra de un placebo analítico al cual se le adiciona una cantidad conocida del analito.
26. **Precisión:** La precisión de un método analítico es el grado de concordancia entre resultados analíticos individuales cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes muestreos de una muestra homogénea del producto. Es además una medida del grado de reproducibilidad y/o repetibilidad del método analítico bajo las condiciones normales de operación. Usualmente se expresa en términos de desviación estándar o del coeficiente de variación.
27. **Precisión Intermedia:** Precisión de un método analítico, expresada como la concordancia relativa obtenida entre determinaciones independientes realizadas en un mismo laboratorio, por diferentes analistas, en distintos días.
28. **Proporcionalidad:** Relación establecida por una ecuación matemática entre los resultados obtenidos por dos métodos analíticos.

29. **Protocolo de Validación:** Descripción de pruebas específicas para demostrar que un proceso de resultados que cumplen con los criterios preestablecidos de manera consistente.
30. **Rango:** Es el intervalo entre los niveles superior e inferior de la sustancia (incluyendo estos niveles), el cual se ha demostrado que es preciso, exacto y lineal utilizando el método descrito.
31. **Recobro:** Cantidad del analito determinada en el placebo adicionado o muestra adicionada, empleando el método analítico.
32. **Repetibilidad:** Precisión de un método analítico, expresada como la concordancia obtenida entre determinaciones independientes realizadas por un solo analista, usando los mismo instrumentos y método.
33. **Reproducibilidad:** Precisión de un método analítico, expresada como la concordancia entre determinaciones independientes realizadas por diferentes laboratorios.
34. **Revalidación:** Comprobación de que el método analítico mantiene su desempeño cuando existen cambios en la composición del producto, en el método analítico, o cambios críticos en los procesos de fabricación.
35. **Robustez:** Capacidad del método analítico de mantener su desempeño al presentarse variaciones pequeñas pero deliberadas, en los parámetros normales del método.
36. **Sustancias de Referencia:** Sustancia de uniformidad reconocida destinada a utilizarse en comprobaciones analíticas físicas, químicas o microbiológicas en el transcurso de las cuales sus propiedades se comparan con la sustancia en evaluación.
37. **Sustancia de Referencia Primaria:** Sustancia que es designada o reconocida por tener la más alta calidad metrológica, cuyas propiedades se aceptan sin referencia a otras sustancias.
38. **Sustancia de Referencia Secundaria:** Sustancia cuyas propiedades se asignan por comparación con una sustancia de referencia primaria, o bien, cuando es certificada mediante un procedimiento científicamente reconocido.
39. **Tolerancia:** Reproducibilidad de los resultados analíticos obtenidos por el análisis de la misma muestra bajo modificaciones de las condiciones normales de operación, tales como diferentes temperaturas, lotes de reactivos, columnas, sistemas de elución, tipos de empaque (soporte, fase estacionaria, etc.), condiciones ambientales, etc.
40. **Validación del Método Analítico:** Proceso por el cual se demuestra, por estudios de laboratorio, que la capacidad del método satisface los requisitos para la aplicación analítica deseada.

AOAC	Association of Official Analytical Chemists
ASTM	American Society for Testing and Materials
b_1	Pendiente
b_0	Ordenada al origen
BP	British Pharmacopoeia
BPF	Buenas prácticas de fabricación
CLAR	Cromatografía de líquidos de alta resolución
CFR	Code of Federal Regulations
CHBP	Rama de Protección de la Salud Canadiense
CIPAM	Comisión Interinstitucional de Prácticas Adecuadas de Manufactura
CNQFB	Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos
COSUFAR	Comité de Sustancias Farmacéuticas de Referencia
CV	Coefficiente de variación o desviación estándar relativa
CV_{yx}	Coefficiente de variación de regresión
D.E.R.	Desviación Estándar Relativa.
FCC	Food Chemical Codex
FDA	Food and Drug Administration
FEUM	Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos
g	Gramos
gl	Grados de libertad
GMPs	Good Manufacture Practices
ICH	International Conference on Harmonization
IQ	Installation Qualification

K'	Factor de capacidad
LC	Límite de cuantificación
LD	Límite de detección
LGS	Ley General de Salud
LNSP	Laboratorio Nacional de Salud Pública
mg	Miligramos
n	Número de mediciones o recobros o blancos o muestras o Determinaciones
N ₀	Número de muestras del análisis inicial
N	Número de platos teóricos
NF	National Formulary
NIST	National Institute of Standard and Technology
NOM	Norma Oficial Mexicana
OMS	Organización Mundial de la Salud
OQ	Operation Qualification
PNO	Procedimiento Normalizado de Operación
ppm	Partes por millón
PQ	Performance Qualification
PV	Performance Verification
R	Resolución.
r ²	Coefficiente de determinación.
Rr	Retención relativa.
S	Desviación estándar relativa.
USP	United States Pharmacopeia



INTRODUCCIÓN

La metodología analítica es una herramienta clave que debe evaluarse con detalle. Los métodos deben ser adecuados para uso analítico. Cuando se aplica la regulación de las BPF's (Buenas Prácticas de Fabricación), deben validarse todos los métodos de análisis. En particular debemos preguntarnos lo siguiente:

- ¿Cómo se validan los métodos?
- ¿Cuál es el proceso para la transferencia de metodología analítica?

La importancia que existe día a día en la validación de métodos analíticos es primordial para cualquier industria farmacéutica. Una parte integral del desarrollo de un método analítico es la validación del mismo, es decir, el método debe probarse para determinar su efectividad. La validación generalmente incluye una evaluación estadística de la precisión, linealidad y exactitud, y proporciona una medida del comportamiento del método. La forma de validar un método analítico dependerá de factores como:

- a) La aplicación que se le va a dar.
- b) Disposiciones gubernamentales.
- c) Lineamientos internos del laboratorio.
- d) Presupuesto disponible.
- e) Criterio de la persona que la realiza y de la organización en la que colabora.

La elaboración de un plan maestro para la validación de métodos analíticos se desarrolla dada la necesidad de poder establecer un documento donde se defina el papel y responsabilidades de todas las áreas involucradas en la validación de métodos analíticos. En el plan maestro debe de plantearse un objetivo, el alcance, los parámetros que se evaluarán dependiendo del método analítico a validar (especificidad, linealidad del sistema, precisión del sistema, exactitud y repetibilidad al 100 %, precisión intermedia (tolerancia), estabilidad de la muestra, linealidad del método, límite de detección, límite de cuantificación, rango y robustez del método); así como poder establecer los criterios en caso de que apliquen para cada uno de los parámetros evaluados.

Por último tomando en consideración que la validación del método analítico es una piedra angular de cualquier plan de validación, todos los demás tipos de validación dependen de su exactitud y confiabilidad.

Al elaborar un plan maestro de validación de métodos analíticos se pretende cumplir con los requerimientos mínimos necesarios mediante el uso de un conjunto unificado de criterios de aceptación. Todo esto con la finalidad de disminuir los tiempos de validación y evitar futuros problemas relacionados con el método analítico, para que en resumen se puedan optimizar los procesos

OBJETIVOS

1. **Desarrollar una propuesta de un plan maestro de validación para métodos analíticos.**
2. **Desarrollar un esquema de validación para métodos analíticos de acuerdo a las necesidades requeridas.**

CAPÍTULO 1

MÉTODOS ANALÍTICOS

CONTENIDO:

- 1.1 ¿Qué es un método analítico?
- 1.2 Categorías de métodos analíticos.
- 1.3 Parámetros de desempeño.

1.1 MÉTODOS ANALÍTICOS:

Un método analítico es la descripción de la secuencia de actividades, recursos materiales y parámetros que se deben de cumplir, para llevar a cabo el análisis de un componente específico de la muestra.

En general los métodos analíticos que más se emplean tienen como objetivo la identificación de componentes, la determinación de impurezas y la valoración cuantitativa. Las características fundamentales que deben poseer los métodos analíticos son especificidad, linealidad, exactitud y precisión. Estas características deberán comprobarse empleando los modelos estadísticos correctos.

1.2 CLASIFICACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS

Para poder evaluar un método analítico dos pasos son requeridos. El primero, determina la clasificación del método y el segundo paso es considerar las características del método analítico.

En la Guía de Procedimientos Adecuados de Laboratorio Analítico del **CIPAM** en su monografía técnica No. 2 establece que los métodos analíticos pueden clasificarse por su origen en cinco grupos:

1. Métodos analíticos farmacopéicos.

Son aquellos que aparecen en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM), en la Farmacopea de los Estados Unidos (USP), en la Farmacopea Europea (EP) o en la Farmacopea Británica (BP). Si por alguna razón éstos no pudieran aplicarse, se utilizarán los métodos consignados en las farmacopeas de otros países.

Cuando estos métodos se utilizan para el análisis de materias primas, no es indispensable comprobarlos estadísticamente. Sin embargo, cuando se trata de formas farmacéuticas se debe tener presente que debido a la gran variedad de formulaciones existentes, los resultados pueden no ser satisfactorios y entonces es deseable comprobar la validez del método en el caso particular que se está analizando.

2. Métodos analíticos oficiales.

Se consideran métodos oficiales aquellos que aparecen consignados en textos como O.A. Códex, etc. Como estos métodos generales son sometidos a estudios estadísticos antes de ser incluidos en estos textos, no es indispensable comprobarlos antes de su empleo para el análisis de materias primas. Para productos terminados valen las mismas consideraciones que para los métodos farmacopéicos.

3. Métodos analíticos no oficiales.

Estos métodos son aquellos que aparecen en la literatura técnica, algunas veces como métodos tentativos o propuestos para su inclusión en farmacopeas y demás textos oficiales. Tanto para su empleo en el análisis de materias primas como en productos terminados, estos métodos deberán ser comprobados previamente a su utilización verificando su especificidad, sensibilidad, exactitud y precisión, aplicando en cada caso los métodos estadísticos correspondientes.

4. Métodos analíticos desarrollados internamente por el laboratorio.

Estos métodos pueden aplicarse a materias primas, intermedios y productos terminados cuando no existan métodos analíticos correspondientes a las categorías descritas en los métodos farmacopéicos, métodos oficiales, métodos no oficiales, o bien cuando por

alguna razón particular éstos no puedan utilizarse, se desea mejorarlos o bien se hayan obtenido resultados dudosos al aplicarlos, el laboratorio podrá desarrollar sus propios métodos.

En ese caso, siempre deberá ser comprobada estadísticamente la validez del método, por lo que se refiere a especificidad, linealidad, exactitud y precisión.

5. Métodos analíticos desarrollados por el solicitante del análisis.

En algunos casos, el solicitante del análisis proporcionará su propio método analítico (como en el caso de un método particular enviado con la solicitud del registro del medicamento ante la SSA). En estos casos el método se considerará como ya comprobado, el laboratorio lo aplicará al análisis de la muestra y se limitará a reportar los resultados obtenidos con dicho método.

La Guía de Validación de Métodos Analíticos (GVMA) edición 2002 CNQFB clasifica los métodos analíticos de la siguiente forma:

1. EN FUNCIÓN DE SU ESTADO REGULATORIO EN:

- a) **Métodos farmacopéicos.** Todos aquellos métodos que aparecen en cualquier farmacopea (FEUM, USP, BP, etc.).
- b) **Métodos no farmacopéicos.** Aquellos métodos no compendiados en una farmacopea.

2. EN FUNCIÓN DE SU APLICACIÓN (NOM 059-SSA1 Y NOM 073-SSA1)

- a) **Métodos para producto a granel.**
- b) **Métodos para producto terminado.**

- c) **Métodos para materia prima.**
- d) **Métodos indicadores de estabilidad.**

3. EN FUNCIÓN DE LA NATURALEZA DE LA RESPUESTA ANALÍTICA EN:

- a) **Métodos físico-químicos.** Cuando la respuesta es de carácter físico (absorción de luz, emisión de luz, voltaje, etc.) o químico (consumo de iones $-OH$, consumo de un acomplejante, etc.).
- b) **Métodos biológicos.** Cuando la respuesta es de carácter biológico (crecimiento de un microorganismo, protección, muerte, etc.).

4. EN FUNCIÓN DE SU PROPÓSITO ANALÍTICO EN:

- a) **Métodos para cuantificar el analito (contenido o potencia).**
- b) **Métodos para establecer la presencia del analito a un límite.**
- c) **Métodos para identificar el analito.**

5. EN FUNCIÓN DE LA NATURALEZA DEL SISTEMA DE MEDICIÓN SE CLASIFICAN EN:

- a) **Métodos en los cuales el instrumento de medición de la respuesta analítica, permite medir una señal de ruido (Cromatógrafo de líquidos, cromatógrafo de gases, espectrofotómetros, etc.)**
- b) **Métodos en los cuales el instrumento de medición no permite medir una señal de ruido (buretas, medidor de halos, potenciómetros, etc.)**

La Conferencia Internacional de Armonización (**ICH-Q2A**) sobre los requerimientos técnicos para el registro de Industrias Farmacéuticas para uso humano clasifica los métodos analíticos en función de su propósito en:

1. **Pruebas de identificación.**
2. **Pruebas cuantitativas para contenido de impurezas.**
3. **Pruebas límite para control de impurezas.**
4. **Pruebas cuantitativas de la molécula del fármaco o preparado farmacéutico u otros componentes indicados en el preparado farmacéutico.**

La **USP 26** clasifica los métodos analíticos en 4 categorías en términos de los siguientes propósitos:

1. **CATEGORÍA I:** Métodos analíticos empleados para cuantificar el activo o componente principal del medicamento (incluyendo conservadores).
2. **CATEGORÍA II:** Métodos analíticos para la determinación de impurezas en la materia prima o productos de degradación en producto terminado. Es conveniente dividirlos en:
 - a) Métodos cuantitativos
 - b) Métodos límites.
3. **CATEGORÍA III:** Métodos analíticos empleados en la evaluación de algunas de las características de calidad (ej. Disolución, eliminación de un fármaco).
4. **CATEGORÍA IV:** Pruebas de identificación.

La **FDA 2000** en una de sus Guías para la Industria, Procedimientos Analíticos y Validación de Métodos, manufactura y control de documentación (**DRAFT GUIDANCE**) clasifica los métodos analíticos en:

1. **Métodos analíticos regulatorios.**
2. **Métodos analíticos alternativos.**
3. **Métodos analíticos indicativos de estabilidad.**

MATRIZ DE EQUIVALENCIA DE MÉTODOS ANALÍTICOS		
EQUIVALENTE	PROPÓSITO	USO
CONTENIDO O POTENCIA	CUANTIFICA AL ANALITO	Métodos para producto a granel. Métodos para producto terminado. Métodos para materia prima. Métodos indicadores de estabilidad. Métodos para fármacos. Métodos para cuantificar el analito en la prueba de disolución. Valoración. Ensayos de cuantificación. Determinación del principio activo liberado. Sustancias relacionadas. Titulación. Uniformidad de dosis.
LÍMITE	ESTABLECE LA PRESENCIA DEL ANALITO A UN LÍMITE	Métodos límite de impurezas. Métodos límite de residuos. Métodos para determinar el nivel de limpieza. Prueba límite. Sustancias relacionadas.
IDENTIFICACIÓN	IDENTIFICA AL ANALITO	Ensayos de identidad.

TABLA 1.1 (Guía de Validación de Métodos Analíticos, edición 2002, CNQFB)



1.3 PARÁMETROS DE DESEMPEÑO

El segundo paso para poder evaluar un método analítico es caracterizar los parámetros de desempeño del mismo durante una validación, siendo los siguientes:

1. **ESPECIFICIDAD.** Es la habilidad de un método analítico para obtener una respuesta debida únicamente a la sustancia de interés y no a otros componentes de la muestra. Esta prueba ayuda a asegurar la identificación del analito.
 - Aplica a excipientes, placebos, matrices complejas, sustancias relacionadas, impurezas los cuales dependiendo de la forma farmacéutica pueden ser sometidos a degradación con:

Formas farmacéuticas
sólidas

Hidrólisis ácida
Hidrólisis alcalina
Fotólisis (luz natural)
Degradación térmica 105 °C

Formas farmacéuticas
semisólidas y líquidas

Hidrólisis ácida
Hidrólisis alcalina
Fotólisis (luz natural)
Oxidación con peróxido de
hidrogeno 1.0 %
Humedad relativa 40 °C/75 %
H.R. (para aerosoles)

2. **SELECTIVIDAD.** Es la capacidad que tiene un método analítico para "distinguir" o separar la respuesta de la sustancia de interés del resto de los componentes de una muestra.
3. **LINEALIDAD.** Es la capacidad de obtener resultados analíticos que sean directamente (o mediante transformadas matemáticas perfectamente definidas) proporcionales a la concentración de la sustancia de interés dentro de un rango determinado.
 - Se determina, construyendo una curva de calibración (concentración vs respuesta medida) utilizando cuando menos 5 diluciones preparadas a partir de una misma solución madre (stock) y haciendo análisis cuando menos por duplicado para cada dilución.
4. **PRECISIÓN.** Expresa el grado de concordancia entre una serie de determinaciones obtenidas del análisis repetido de una muestra homogénea. Usualmente se expresa en términos de Desviación Estándar o del Coeficiente de Variación (Desviación Estándar Relativa), la precisión es una medida del grado de reproducibilidad y/o repetibilidad del método analítico bajo las condiciones normales de operación.
 - Reproducibilidad: Expresa la precisión bajo diferentes condiciones: Analistas, laboratorios, reactivos, días, proveedores, equipos, etc.
 - Repetibilidad: Precisión bajo las mismas condiciones: Analista, equipos, tiempo, reactivos, laboratorio, etc.
 - Se determina por el análisis por sextuplicado de una misma solución estándar correspondiente al 100 % establecido en la linealidad del sistema.
5. **LINEALIDAD DEL MÉTODO.** Es la capacidad que tiene el método para asegurar que que los resultados analíticos, son proporcionales a la concentración de la sustancia en un intervalo determinado. Este resultado analítico puede ser obtenido directamente o por medio de una transformación matemática.



- Se determina construyendo una curva de calibración a partir de placebos cargados de cuando menos 3 diferentes concentraciones de la sustancia de interés, cada uno de manera independiente haciendo el análisis por triplicado.
- Las concentraciones de los placebos cargados deben ser las adecuadas para que, utilizando el método propuesto, las concentraciones de las soluciones finales a analizar estén dentro del intervalo de la linealidad del sistema, incluyendo siempre la correspondiente al 100 %.
- Debe de llevarse a cabo por un mismo analista en las mismas condiciones de operación.

6. EXACTITUD Y REPETIBILIDAD AL 100 %. Es el grado de concordancia entre el valor experimental y el valor verdadero. Se expresa como el % de recobro obtenido de muestras con concentración conocida.

- Se determina de, cuando menos, 6 placebos cargados de manera independiente con la cantidad necesaria de la sustancia de interés para obtener la concentración del 100 %, utilizando el método propuesto. Haciendo el análisis en las mismas condiciones de operación y por el mismo analista.

7. REPRODUCIBILIDAD. Es la precisión de un método analítico expresada como la concordancia entre determinaciones independientes realizadas bajo condiciones diferentes (diferentes analistas, en diferentes días, en el mismo y/o en diferentes laboratorios, utilizando el mismo y/o diferentes equipos, etc.)

- Para realizar esta prueba es necesario contar con muestras de producto terminado de un mismo lote, cuya concentración teórica sea igual o cercana al 100 %, la cual se analiza por 2 analistas diferentes en 2 días diferentes y por triplicado, siguiendo la técnica que se esta validando.



8. ESTABILIDAD DE LA MUESTRA. Es la propiedad de una muestra preparada para su cuantificación, de conservar su integridad fisicoquímica y la concentración de la sustancia de interés, después de almacenarse durante un tiempo determinado bajo condiciones como (refrigeración, temperatura ambiente, etc.).

- Se determina mediante la comparación de los resultados del análisis inicial de 3 muestras con los obtenidos de las mismas muestras después de permanecer un tiempo determinado en diferentes condiciones.
- Se preparan 3 muestras cuya concentración corresponda al 100 % o cercana, se almacena la mitad de las muestras a temperatura ambiente (15 – 30 °C) por 24 y 48 hrs, la otra mitad almacenarlas en refrigeración (2 – 8 °C) por igual intervalo de tiempo.
- Se realiza la determinación de la concentración de dichas muestras después de 24 y 48 horas de almacenamiento en las 2 condiciones de operación, utilizando un estándar de referencia recién preparado para cada tiempo, de acuerdo a lo establecido en el método analítico.
- La determinación debe ser efectuada por el mismo analista, se reportan los resultados obtenidos y se realizan los cálculos estadísticos necesarios para la prueba.

9. LÍMITE DE DETECCIÓN. Es la concentración mínima de la sustancia de interés que puede ser detectada por el sistema analítico propuesto.

Se determina realizando diluciones del estándar de referencia considerando el punto más alto la concentración empleada como la mínima en la prueba de linealidad del sistema. Se manejan mínimo 5 diluciones hacia abajo y se realiza la prueba por triplicado partiendo de la misma solución madre (stock).

10. LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN. Es la concentración mínima de la sustancia de interés que puede ser cuantificada de manera confiable con una exactitud y precisión adecuada. Es particularmente usada para determinación de impurezas y/o productos de degradación.



Se determina realizando diluciones del estándar de referencia considerando el punto más alto la concentración empleada como la mínima en la prueba de linealidad del sistema. Se manejan mínimo 5 diluciones hacia abajo y se realiza la prueba por triplicado partiendo de la misma solución madre (stock).

El límite de cuantificación se obtiene haciendo los cálculos correspondiente para sacar la concentración de las muestras en aquellas donde se tengan resultados reproducibles y confiables.

11. ROBUSTEZ. Es la medida de la capacidad que tiene un sistema analítico de no ser afectado por pequeñas variaciones en los parámetros analíticos. Tales como:

Métodos cromatográficos (pH, velocidad de flujo, temperatura, fase móvil, proporción de fase móvil, presión, volumen de inyección, No. de platos teóricos).

12. TOLERANCIA. Es el grado de reproducibilidad de los resultados analíticos obtenidos por el análisis de la misma muestra, cuando es influenciada por condiciones operacionales o ambientales. Tales como:

Métodos cromatográficos: Analistas, equipos, laboratorios, proveedores, diferentes días, condiciones ambientales (columnas, reactivos, etc.)

A partir de la tabla 1.2 se establecen los parámetros de desempeño a estudiar en la validación del método analítico.



De acuerdo a la Guía de Validación de Métodos analíticos 2002, por parte del CNQFB se establece en función del propósito del método analítico la siguiente tabla:

PARÁMETRO DE DESEMPEÑO	CONTENIDO/ POTENCIA/ VALORACIÓN DISOLUCIÓN	PRUEBA DE IMPUREZAS		IDENTIFICACIÓN
		MATERIA PRIMA CONTENIDO/ VALORACION	LÍMITE	
Precisión / Adecuabilidad del Sistema	SI	SI	SI	*
Linealidad del Sistema	SI	SI	NO	NO
Especificidad ¹	SI ³	SI	SI	SI
Exactitud y Repetibilidad	SI	SI	NO	NO
Linealidad del Método	SI	SI	NO	NO
Precisión del Método o Precisión Intermedia ²	SI	SI	NO	NO
Estabilidad Analítica de la Muestra ²	-	-	NO	NO
Límite de Detección	NO	NO	SI	NO
Límite de Cuantificación	NO	SI	NO	NO
Robustez	*	*	*	NO
Tolerancia	*	*	*	NO

* Puede ser requerido dependiendo de la naturaleza del método.

1. La falta de especificidad de un método analítico, puede ser compensado por otra alternativa analítica de soporte, como por ejemplo cromatografía de capa fina.
2. También es definido como un estudio de tolerancia.
3. Un método que es exacto y lineal, por definición es específico al placebo analítico o a los otros componentes de la muestra.

TABLA 1.2

CNQFB 2002



Los métodos analíticos deben estar validados y de acuerdo a sus categorías deben de cumplir con los siguientes parámetros de validación:

PARÁMETRO ANALÍTICO	CATEGORÍAS DE MÉTODOS				
	1	2 A	2 B	3	4
PRECISIÓN	SI	SI	NO	SI	NO
EXACTITUD	SI	SI	*	*	NO
LÍMITE DE DETECCIÓN	NO	NO	SI	*	NO
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN	NO	SI	NO	*	NO
ESPECIFICIDAD	SI	SI	SI	*	SI
RANGO	SI	SI	*	*	NO
LINEALIDAD	SI	SI	NO	*	NO
ROBUSTEZ	SI	SI	SI	*	NO
TOLERANCIA	SI	SI	SI	SI	NO

* Puede ser requerido dependiendo de la naturaleza del método.
 1. Cuantificación del componente principal.
 2A. Cuantificación de impurezas.
 2B. Pruebas límite de impurezas.
 3. Características de calidad (disolución, liberación).
 4. Pruebas de identificación.

TABLA 1.3

USP 25



El grado de la validación es dependiente de la clasificación y características del método analítico en cuestión. La ICH desarrolló una matriz usando estas clasificaciones y características del método para hacer esta determinación. Esta matriz es similar en concepto a las matrices encontradas en la Farmacopea de los Estados Unidos (USP) <1225> y en la guía de aceptación analítica de la Rama de Protección de la Salud Canadiense (CHBP). La Tabla 1.4 muestra una versión modificada de una matriz de las guías de la ICH.

CLASE DE MÉTODO ANALÍTICO CARACTERÍSTICAS	PRUEBA DE IDENTIFICACIÓN	PRUEBA PARA IMPUREZAS LÍMITE		VALORACIÓN, DISOLUCIÓN (ÚNICAMENTE MEDIDA)
				CONTENIDO/POTENCIA
EXACTITUD	-	+	-	+
PRECISIÓN	-	+	-	+
REPETIBILIDAD				
PRECISIÓN INTERMEDIA	-	+1	-	+1
ESPECIFICIDAD (2)	+	+	+	+
LÍMITE DE DETECCIÓN	-	-3	+	-
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN	-	+	-	-
LINEALIDAD	-	+	-	+
RANGO	-	+	-	+

- Significa que esta característica normalmente no se determina.

+ Significa que esta característica normalmente se determina.

1 En los casos en donde la reproducibilidad se ha llevado a cabo, no es necesaria la precisión intermedia.

2 La falta de especificidad de un método analítico puede ser compensada por otro método analítico de soporte.

3 Puede ser necesario en algunos casos.

TABLA 1.4

ICH

La FDA DRAFT 2000, marca los parámetros de desempeño que deben ser evaluados dependiendo de la naturaleza del método analítico a evaluar. En la tabla siguiente se pueden ver semejanzas con la tabla anterior donde se muestra una versión modificada de una matriz de las guías de la ICH.

MÉTODOS PARÁMETROS DE DESEMPEÑO	IDENTIFICACIÓN	PRUEBAS DE IMPUREZAS		VALORACIÓN DISOLUCIÓN (SOLAMENTE MEDICIÓN) CONTENIDO/ POTENCIA	PRUEBAS ESPECÍFICAS
		CUANTITATIVA	LÍMITE		
EXACITUD	NO	SI	NO	SI	SI (4)
PRECISIÓN REPETIBILIDAD	NO	SI	NO	SI	SI (4)
PRECISIÓN INTERMEDIA	NO	SI (1)	NO	SI (1)	SI (4)
ESPECIFICIDAD	SI (2)	SI	SI	SI (5)	SI (4)
LÍMITE DE DETECCIÓN	NO	NO (3)	SI	NO	NO
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN	NO	SI	NO	NO	NO
LINEALIDAD	NO	SI	NO	SI	NO
RANGO	NO	SI	NO	SI	NO
ROBUSTEZ	NO	SI	NO (3)	SI	SI (4)

Notas:

NO = Significa que esta característica normalmente no se determina.

SI = Significa que esta característica normalmente se determina.

1 = En casos donde la reproducibilidad haya sido estudiada, la precisión intermedia no es necesaria.

2 = La falta de especificidad de un método analítico puede ser compensada por un segundo método analítico adicional.

3 = Puede ser necesario en algunos casos.

4 = Puede no ser necesario en algunos casos.

5 = La falta de especificidad de un método para liberación puede ser compensado por un método de impurezas.

TABLA 1.5

FDA DRAFT 2000



CAPÍTULO 2

VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS

CONTENIDO:

- 2.1 ¿ Para que y porqué validar un método analítico?
- 2.2 Criterios de aceptación.

2.1 PARA QUÉ Y PORQUE VALIDAR UN MÉTODO ANALÍTICO.

La validación de métodos analíticos es un tema de considerable interés. Documentos como son las "Guías ACS para Adquisición de Datos y Evaluación de Calidad de Datos" recomiendan el uso de métodos validados. La promulgación de regulaciones ambientales federales requieren la inclusión de métodos de referencia validados. Organizaciones escritoras de estándares gastan un tiempo considerable colaborando en la prueba de métodos, desarrollándolos, validándolos en aplicaciones típicas y determinando sus características funcionales. No obstante, cuestiones acerca de que tan apropiados son los métodos y sobre la validación de estos y su utilización en situaciones específicas, a menudo van en aumento. Algunas de estas cuestiones pueden asociarse a diferencias en entendimiento sobre que es realmente un método y cual es el significado del proceso de validación. Por lo tanto hay que clarificar la nomenclatura de la metodología analítica y definir los procesos de validación de métodos para su uso en situaciones específicas.

Jerarquía de la Metodología.

La jerarquía de la metodología, procede desde lo general hasta lo específico, y debe considerarse como sigue:

técnica → método → procedimiento → protocolo.

Una técnica es un principio científico cuyo uso ha sido encontrado para proveer información composicional; la espectrofotometría es un ejemplo. Los químicos analistas históricamente han investigado nuevas técnicas de medición y su habilidad para suministrar una nueva capacidad de medición, o para reemplazar o suplementar metodología existente. Como resultado de las aplicaciones innovadoras, los analistas pueden ahora analizar numerosas sustancias en mezclas sumamente complejas a bajos niveles tratados, con precisión y exactitud.



Un **método** es una adaptación distinta para una medición con un propósito seleccionado. El método de la pararosanilina para la medición de SO_2 , es un ejemplo. Este envuelve la medición de la intensidad de un colorante de color específico el cual es "blanqueado" por el gas. Distintos procedimientos para llevar a cabo este método pueden ser encontrados en la literatura. La metodología moderna es compleja y puede incorporar distintas técnicas de medición; un método puede ser entonces interdisciplinario.

Un **procedimiento** consiste en escribir las direcciones necesarias para utilizar un método. Los "métodos estándar" desarrollados por la ASTM y la AOAC son, en realidad, procedimientos estandarizados. La norma ASTM D2914 - Método de Prueba Estándar, para el SO_2 contenido en la atmósfera (Método West-Gaeke), es un ejemplo. Mientras que una descripción precisa es el objetivo, puede resultar difícil y hasta imposible, describir cada detalle de cada operación en un procedimiento. Por consiguiente, algún nivel de sofisticación es presumido por el usuario de cualquier procedimiento publicado; si cada usuario sofisticado es tomado en cuenta, solo un mínimo de detalle puede suministrarse y viceversa. Sin embargo, se ha observado que cualquier omisión en la descripción de pasos críticos es una fuente potencial de variación o inclinación, siempre en las manos del conocimiento de los analistas. Por causa de la flexibilidad intencionalmente o no, suministrada por el analista, o por causa de las diferencias de interpretación, se presenta una falla para decir que diferencias menores o mayores ocurren en el uso de procedimientos definidos con mayor precisión. Algunas diferencias cuentan en la variabilidad dentro del laboratorio observada en muchas pruebas de colaboración. Además, en cualquier punto de partida de un procedimiento publicado, nuevos resultados del método que son necesarios a hacerse acreedores a la validación.

El término de **protocolo** es el nombre más específico para un método. Un protocolo es un punto de direcciones definitivas que deben seguirse, sin excepción alguna, si los resultados analíticos son aceptados para un propósito dado. Los protocolos pueden consistir de métodos o procedimientos existentes, de modificaciones hechas a estos, o que estos sean desarrollados especialmente para propósitos específicos. Típicamente, ellos son prescritos por un cuerpo oficial como un proceso regulador. El método de referencia de la EPA para

la determinación de SO_2 en la atmósfera (método de la pararosanilina) es un ejemplo. El método de prueba especificado como parte de un acuerdo contractual para la aceptación del dato, producto o material, es otro ejemplo de un protocolo, aunque no sea llamado así en el contrato. Una cantidad de métodos, procedimientos, y protocolos basados en el mismo principio de medición puede aumentarse para una determinación analítica dada. Usualmente ellos son escritos con nomenclatura diferente, y pueden contener agudeza o diferencias mayores en detalles técnicos. El grado para el cual las necesidades son individualmente validadas es un problema de juicio profesional. Es evidente que algunas pruebas de validación pueden ser meramente un problema de la claridad de la nomenclatura de la experimentación.

Jerarquía de la Metodología Analítica		
	Definición	Ejemplo
TÉCNICA	PRINCIPIO CIENTÍFICO UTILIZADO PARA DAR INFORMACIÓN COMPOSICIONAL.	Espectrofotometría
MÉTODO	ADAPTACIÓN DISTINTA DE UN TÉCNICA PARA UN PROPÓSITO DE MEDICIÓN SELECCIONADO.	Método de la pararosanilina para medir SO_2 .
PROCEDIMIENTO	ESCRITURA DE LAS DIRECCIONES NECESARIAS PARA USAR UN MÉTODO.	Norma ASTM-D2914- Método de Prueba Estándar para el contenido de SO_2 en la atmósfera (Método WEST-GAEKE).
PROTOCOLO	PUNTO DE DIRECCIONES DEFINITIVAS QUE DEBEN SEGUIRSE, SIN EXCEPCIÓN, SI LOS RESULTADOS ANALÍTICOS SON ACEPTADOS PARA UN PROPÓSITO DADO.	Método de Referencia de la EPA para la determinación de SO_2 en la atmósfera (Método de la pararosanilina).

Figura 2.1. Jerarquía de la Metodología Analítica

Objetivos para la Validación.

La validación es el proceso de determinación de la disponibilidad de la metodología para proveer datos analíticos útiles. Este es un valor de juicio en el cual el funcionamiento de los parámetros del método es comparado con los requerimientos para el dato analítico, como se ilustra en la Figura 2.2.

Obviamente un método que es válido en una situación puede ser inválido en otra. Por lo tanto el establecimiento de los requerimientos de la firma para el dato, es un prerrequisito para la selección del método y la validación. Cuando los requerimientos del dato son considerados incorrectamente, las mediciones analíticas pueden ser innecesariamente costosas si el método escogido es más exacto que lo requerido, inadecuado si el método es poco exacto que lo requerido, o absurdamente malo si la exactitud del método es desconocida.

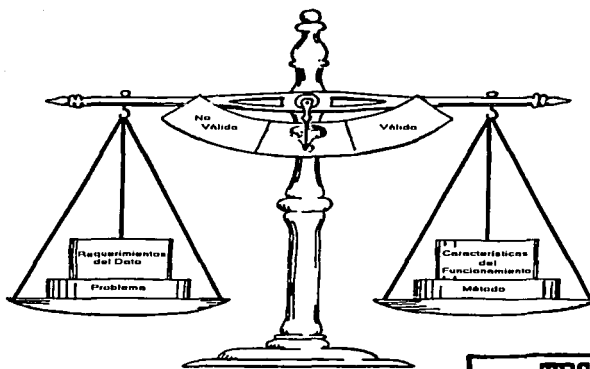


Figura 2. 2

Concepto básico del proceso de validación

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Los tipos de muestras para los cuales los métodos han sido validados deben de ser claramente descritos, y los usuarios deben de estar conscientes de la necesidad de demostrar sus habilidades para usar el método en sus laboratorios.

Los tratados sobre precisión y exactitud ofrecen un resultado de un proceso de validación, especialmente en el caso de un ejercicio de prueba colaborativa. Algunos tratados son interpretados; ellos meramente describen los resultados de los ejercicios y son, estimados

de las expectativas sobre el funcionamiento típico del método. Ellos no deben construirse para ejecutar los parámetros, sino que deben usarse para estimar la **incertidumbre** de cualquier dato futuro obtenido mediante el uso del método. Sin embargo, información sobre la precisión y exactitud debe ser obtenida en un grado posible que suministre una base cuantitativa para juzgar la capacidad de funcionamiento general.

Otra información utilizada para caracterizar la metodología o para juzgar su adecuabilidad para un uso dado, incluye: sensibilidad para interferencias, límites de detección, y el uso de un rango de medición. Normalmente, alguna información es obtenida de una mejor manera como un resultado de investigación aplicada durante la etapa de desarrollo del método. Debido a que el límite de detección está cercanamente relacionado a la precisión alcanzada, tanto el límite de detección como el rango más bajo de concentración detectable pero no necesariamente medible y el límite de cuantificación como el rango más bajo de concentración detectable y medible deben ser evaluados de manera pertinente en cada laboratorio.

Tanto la necesidad de validar la metodología y seguir el procedimiento, son cuestiones de juicio profesional. La validación puede ser general o específica.

- **Validación General.**

La validación de técnicas de medición depende de la elucidación de los principios científicos sobre los cuales está basada. Algunos resultados de validación provienen de la investigación de la comunidad científica y su solidez es evaluada por revistas similares. El buen entendimiento de los principios de medición puede tener un buen grado de alcance y mejorar la calidad de su uso. Para confirmar este tratado, solo se necesita pensar sobre la variedad de investigaciones que han contribuido al entendimiento de los principios de la cromatografía de gases y que han sido una guía para el desarrollo de este estatus como una técnica de medición primordial.

El surgimiento de métodos como resultado de la investigación aplicada, típicamente de forma individual, envuelve tanto un entendimiento comprensivo de técnicas de medición y un alto grado de ingeniosidad e innovación en su aplicación.

Realizar pruebas de los métodos en situaciones prácticas juega un papel importante en el desarrollo del proceso y validación. Para un tiempo ordinariamente limitado en alcance, la validación en una etapa de investigación puede ser comprendida y puede aplicarse para una variedad de rangos de usos finales.

Los procedimientos son desarrollados para usarse al final de métodos en situaciones analíticas prácticas. El uso de laboratorios necesita más detalles experimentales que están contenidos en reportes de investigación publicados en un método, para usarse en mediciones prácticas.

Frecuentemente, cuando un método es usado vastamente, el procedimiento hace que el usuario decida la necesidad de estandarizarlo. Esto es realizado por conciencia en un forum de organización estándar. Durante este proceso, el procedimiento estándar resultante es examinado tanto técnicamente como editorialmente. Una revisión cuidadosa del proceso incluye pruebas colaborativas en las cuales los materiales de prueba estables son analizados para verificar la utilidad del procedimiento e identificar tanto técnica como editorialmente las debilidades. El procedimiento es ilustrado en la Figura 2.3. Si la composición de las muestras de referencia es conocida, la precisión e inclinación del proceso, pueden evaluarse dentro del laboratorio; por otro lado, solo la precisión puede ser evaluada. Si un método de exactitud conocida esta disponible, la prueba colaborativa consiste en la comparación con el método candidato, en este caso tanto la precisión como la inclinación pueden ser evaluadas. El funcionamiento de los parámetros del procedimiento evaluados se usan para la prueba colaborativa, los cuales son considerados como típicos. Cualquier extensión de ellos para otro tipo de muestras es solamente por inferencia, y es necesario justificar esto. Aunque pueda haber un consumo de tiempo, el desarrollo de un método estándar es uno de los mejores caminos para validar un procedimiento debido a que la examen de holgura está involucrado.



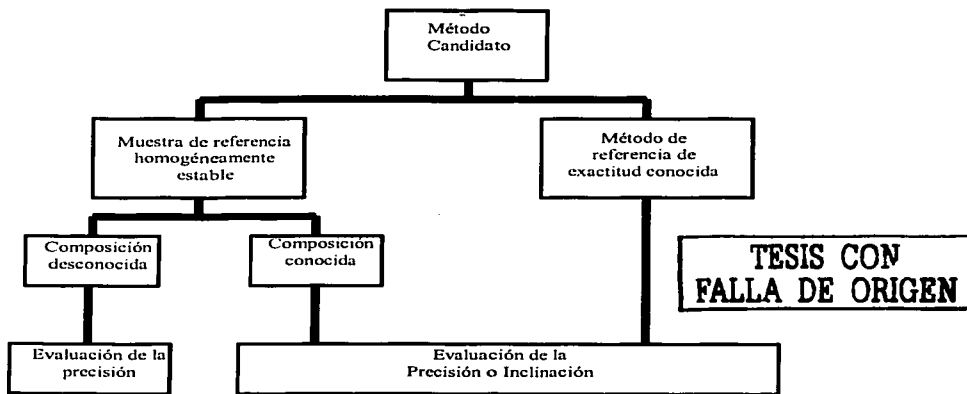


Figura 2.3

Proceso de prueba colaborativa.

Un protocolo es prescrito por decreto de una organización requiriendo un tipo específico de medición. Presumiblemente esto es el resultado de una decisión inteligente basada en el proceso de validación de la organización o en la de otros. Esta consiste de una extensiva prueba colaborativa o publicación de un protocolo propuesto para el comentario público. Desafortunadamente la expedición de esto tiene una anulación de juicio científico en algunos casos, resultando en la promulgación de protocolos no validados y científicamente incompletos. Los protocolos que son especificados en un arreglo contractual pueden ser seleccionados arbitrariamente o a través de un proceso de selección bien concebido. La verificación de la validez para el uso específico debe ser una consideración principal.

- **Validación específica.** El uso de la metodología analítica es para producir información composicional acerca de muestras específicas necesarias para la solución de problemas particulares de alineación a partir de investigaciones de búsquedas exóticas para todo el mundo. La selección apropiada de metodología de



medición es con frecuencia una consideración mayor. Métodos o procedimientos, que igualmente han sido previamente validados en términos generales, no pueden inequívocamente ser asumidos como válidos para la situación presente, debido a las diferencias posibles en la matriz de muestra y otras consideraciones. El proceso de validación clásico es ilustrado en la figura 2.4. Cuando las muestras de referencia que están disponibles son similares en todo lo que respecta a las muestras de prueba, el proceso es muy simple; este consiste en analizar un número suficiente de muestras de referencia y comparar los resultados con los valores esperados o certificados. Antes o durante un ejercicio, el analista debe demostrar la disponibilidad de un estado o control estadístico del sistema de medición, tanto que los resultados puedan ser aceptados como representativos de lo esperado cuando se está usando el sistema de metodología de medición.

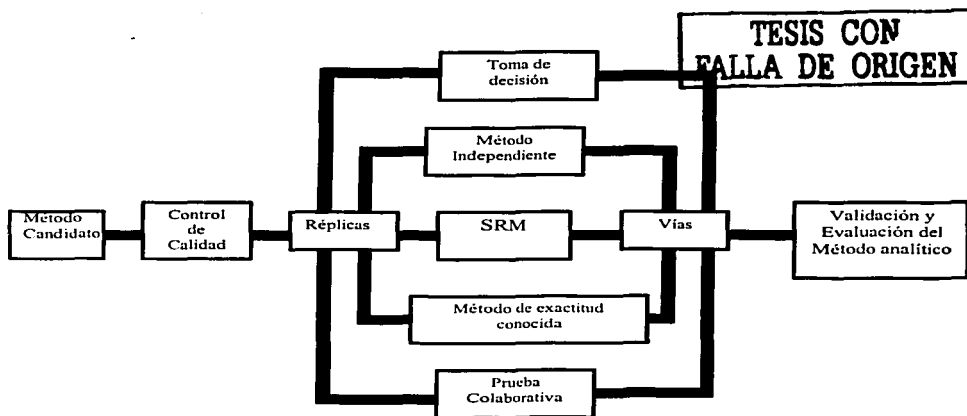


Figura 2.4 Proceso general para evaluación / validación de metodología.



Cuando un material de referencia apropiado no está disponible, otras aproximaciones distintas son posibles. Una consiste en comparar los resultados del método candidato con los de otro método conocido el cual es aplicable y digno de confianza, pero no usado en la situación presente debido al costo, la baja disponibilidad de personal o equipo, u otras razones. De igual manera la concordancia de los resultados con los obtenidos usando cualquier método analítico independiente adicional puede proporcionar alguna información útil.

Las muestras que ya tienen tiempo de haber sido preparadas, pueden usarse como muestras de referencia. Esta aproximación es poco deseable y poco satisfactoria debido a la dificultad en la preparación confiable de algunas muestras y también a los materiales artificialmente añadidos los cuales pueden exhibir efectos en la matriz de la muestra que difieren de aquellos que se presentan en muestras naturales. Las muestras de las pruebas actuales pueden usarse para evaluar la precisión de un método o procedimiento, pero no proporcionan información acerca de la presencia o magnitud de cualquier inclinación de la medición.

Otra aproximación se basa en inferir lo adecuado de la metodología a partir de mediciones o análogos pero diferentes de los materiales de referencia. El juicio de crítica profesional del analista es necesario para decidir la validez de la inferencia.

En todos los casos, pruebas suficientes deben hacerse para evaluar la metodología para la variedad de matrices y rangos de composiciones esperadas durante el proceso de medición. Ordinariamente, en la última muestra se incluyen tres niveles de concentración, nombrados, el extremo y la mitad del rango de composiciones esperadas. Consideraciones estadísticas sugieren que al menos 6 grados de libertad (ordinariamente 7 mediciones) deben implicarse para cada punto de decisión.

El objetivo de validar un método analítico es que dicho método de análisis utilizado para verificaciones analíticas deben cumplir con estándares adecuados de exactitud, precisión y confiabilidad en los resultados producidos por el método.

Al validar los métodos analíticos en primer lugar se tiene que comprobar la adecuabilidad del sistema para determinar la efectividad de la operación del sistema analítico antes de ser utilizado.

Antes de iniciar la validación del método se deben cubrir los siguientes puntos:

- Conocer el límite de desviaciones del equipo a utilizar.
- Calibración de los instrumentos de medición.
- Calificación del equipo.
- Programa de mantenimiento.
- Procedimiento de uso del equipo.
- Calificación del personal.

Protocolo y desarrollo de la validación.

Una vez desarrollado el método y haber realizado experimentos de pre-validación:

1. Se debe definir la aplicación, objetivos y alcance del método a validar.
2. Definir los parámetros de desempeño y criterios de aceptación.
3. Verificar las características de desempeño relacionadas con el equipo.
4. Certificación de materiales (estándares y reactivos).
5. Documentos del método (puntos críticos).
6. Definir los experimentos de validación.

Cada paso debe de estar bien descrito con todos sus parámetros de desempeño y los criterios de aceptación de cada uno; deben documentarse todos los resultados obtenidos y la conclusión respectiva de la validación del método analítico realizada.



2.2 CRITERIOS DE ACEPTACIÓN ¹⁰.

1. ESPECIFICIDAD.

CRITERIO DE ACEPTACIÓN:

Confirmar que el método desarrollado es capaz de cuantificar la sustancia de interés sin que exista interferencia de otras sustancias presentes (productos de degradación y/o sustancias relacionadas)

2. LINEALIDAD.

CRITERIO DE ACEPTACIÓN:

$$\text{D.E.R.} \leq 1.5 \%$$

$$r > 0.99$$

$$r^2 \geq 0.98$$

$$b \approx 0$$

m = sensibilidad del sistema.

Nota: Para métodos microbiológicos $r > 0.98$

3. PRECISIÓN

CRITERIO DE ACEPTACIÓN:

$$\text{D.E.R.} \leq 1.5 \%$$

Nota: Para métodos microbiológicos $\text{D.E.R.} \leq 3.0 \%$

4. LINEALIDAD DEL MÉTODO.**CRITERIO DE ACEPTACIÓN:**

Cantidad adicionada vs cantidad recuperada:

$$m = 1$$

$$b \approx 0$$

$$r^2 \geq 0.98$$

Los porcentos de recobro y la D.E.R. en cada nivel y los globales de todo el intervalo de la linealidad deben estar de acuerdo a la Tabla 2.1.

Nota: En métodos de cuantificación de fármacos en fluidos biológicos, la amplitud del estudio dependerá de las cantidades mínima y máxima esperada.

5. EXACTITUD Y REPETIBILIDAD AL 100 %.**CRITERIO DE ACEPTACIÓN:**

Cantidad adicionada vs cantidad recuperada:

$$m = 1$$

$$b \approx 0$$

$$r^2 \geq 0.98$$

Los porcentos de recobro y la D.E.R. en cada nivel y los globales de todo el intervalo de la linealidad deben estar de acuerdo a la Tabla 2.1.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

MÉTODOS	% DE RECOBRO	D.E.R.
Cromatográficos	98.0 – 102.0 %	≤ 2.0 %
Volumétricos (Titulométricos)	98.0 – 102.0 %	≤ 2.0 %
Químicos y espectrofotométricos	97.0 – 103.0 %	≤ 3.0 %
Microbiológicos	95.0 – 105.0 %	≤ 5.0 %

Tabla 2.1

6. REPRODUCIBILIDAD.

CRITERIO DE ACEPTACIÓN:

D.E.R. \leq 2.0 % (Métodos cromatográficos y volumétricos (titulométricos))

D.E.R. \leq 3.0 % (Métodos espectrofotométricos)

D.E.R. \leq 5.0 % (Métodos microbiológicos)

7. ESTABILIDAD DE LA MUESTRA

CRITERIO DE ACEPTACIÓN:

La muestra es estable si el IC para la diferencia de la media de la muestra con respecto a la media del análisis inicial incluye el valor de cero y/o la magnitud del efecto no exceda los siguientes porcentajes con respecto al 100 %.

Métodos cromatográficos y volumétricos (titulométricos): $I = 100 \pm 2.0$ %

Métodos químicos y espectrofotométricos: $I = 100 \pm 3.0$ %

Métodos microbiológicos: $I = 100 \pm 5.0$ %

Métodos biológicos: $I = 100 \pm 10.0$ %

8. LÍMITE DE DETECCIÓN.

CRITERIO DE ACEPTACIÓN:

2 a 3 veces el nivel de ruido.



9. LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN.

CRITERIO DE ACEPTACIÓN:

10 a 20 veces el nivel de ruido.

Ruido: Es la variación observada en la señal del detector cuando la muestra no está presente.

10. ROBUSTEZ.

CRITERIO DE ACEPTACIÓN:

Los resultados obtenidos en la determinación de la concentración de las muestras deben arrojar datos confiables y reproducibles.

11. TOLERANCIA

CRITERIO DE ACEPTACIÓN:

Los resultados obtenidos en la determinación de la concentración de las muestras deben arrojar datos confiables y reproducibles.

CAPÍTULO 3

PLAN MAESTRO DE VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS

CONTENIDO:

- 3.1 Definición de una Plan Maestro de Validación de Métodos Analíticos.
- 3.2 Elementos para la elaboración de un PMVMA.
- 3.3 Regulación.

3.1 QUÉ ES UN PLAN MAESTRO DE VALIDACIÓN.

Es un documento internamente aprobado el cual describe, con palabras claras y concisas, las expectativas generales, intenciones, métodos y el aprovechamiento de estos en la validación completa. El PMV describe planes para establecer la viabilidad y consistencia del equipo, sistemas y procesos para su facilidad, así como un programa para mantener un estado de control en la validación.

Se pueden ver planes maestros tan pequeños como de 4 o 5 páginas, y voluminosos de 500 páginas. En esto no hay regla, pero 5 páginas pueden no ser un plan maestro y 500 páginas pueden ser más de lo que se requiere. Se tiene que desarrollar un plan maestro de acuerdo a las necesidades con sus limitaciones razonables.

Técnicamente, no es un requisito contar con un plan maestro. No hay una regulación en el CFR o en alguna otra guía en este caso en la Guía de Validación de Métodos Analíticos donde se indique que un plan maestro es necesario o deseado. Actualmente un plan maestro comienza cuando la industria toma una ruta de organización y control de costos. Al mismo tiempo, en la validación se ve el factor costo. El costo de validar es cercano al 13 % de total de los proyectos de instalación en el caso de Validación de Procesos. Hoy en día, la validación puede alcanzar un poco más del 8 % de la construcción de proyectos.

Esta es una de las razones, por las cuales un plan maestro de validación puede salvarnos de problemas comunes y reducir al final los costos de validación. En efecto un plan maestro es el principio de una validación completa. Aunque la FDA no demanda la existencia de un plan maestro, se tiene la expectativa de ver uno. Uno podría preguntarse ¿Por qué tenemos que elaborar un plan maestro?, ¿Qué guía y que regulación establece la elaboración de un plan maestro? Bueno no se requiere verlo escrito pero si se espera verlo.

La FDA espera que realmente se aproveche la validación. Los investigadores verán al PMV como la validación misma. Si decimos en el plan maestro que es lo que se va a hacer este documento y el otro, se revisa tanto uno como otro, y no se hace en la validación. La FDA

pedirá una cita por no llevar un control. Ellos no pueden realmente hacer una cita por el plan maestro de validación pero de acuerdo con el CFR pueden citarnos para ver porque no se llevo a cabo lo que esta documentado que se tuvo que hacer.

Ahora, si solamente se hace una parte de lo que esta documentado en el plan maestro, este no puede ser recomendado y mucho menos empleado. Es importante que este no sea extremadamente detallado pero si que se den los puntos generales y que ayuden a llevar a cabo una validación mucho más fácil.

Así como se desarrolla el plan maestro, se debe de cumplir con las BPF's, el plan maestro de validación es una herramienta cuando se quiere mejorar la validación de procesos o sistemas. En efecto, un PMV ayuda a coordinarse y al tener este documento se pueden establecer criterios generales de aceptación.

Cuando se construye un plan maestro de validación este arroja una serie de problemas mínimos los cuales pueden ser aprovechados en la validación ya que dan evidencia para un buen progreso.

Cuando uno esta llevando a cabo la validación, el plan maestro puede decir cuando estamos haciendo algo bien y cuando no y los cambios que podemos realizar. Lo más importante de un PMV es la comunicación y trabajo en equipo.

Como bien sabemos, la FDA tiene regulaciones en los alimentos, cosméticos y fármacos de uso humano y veterinario, en la producción de medicamentos y químicos. Las razones para validar son las siguientes:

1. Probar que el proceso funciona consistentemente.
2. Es una regla (FDA, CFR21)
3. Provee de ciertos estándares en la industria.
4. Da un sentido bueno de negocios.
5. Da tranquilidad a las personas.
6. Es realmente una manera correcta y natural de hacer las cosas.

La industria constantemente cambia, nuevas metodologías surgen y son introducidas, por lo tanto hay que asegurar la calidad de las tecnologías. Las buenas prácticas en industrias farmacéuticas se deben de aplicar, como podemos ver, las BPF's no son solo unas cuantas reglas inventadas desde 1976.

3.2 ELEMENTOS PARA LA ELABORACIÓN DE UN PMVMA.

El plan maestro describe el plan para establecer la viabilidad y consistencia del equipo, sistema, el proceso y su facilidad. Después de la validación, el documento puede cambiar, ya que requiere de revisiones periódicas. Durante el establecimiento del PMV y sus posteriores revisiones, es conveniente hacernos las siguientes preguntas:

- ¿Cuales son los objetivos de la validación?
- ¿Qué métodos analíticos serán validados?
- ¿Las metodologías analíticas serán para distintos usos?
- ¿Cual es el objetivo de la actividad?
- ¿Como será definida la validación?
- ¿Quién participara en el desarrollo del plan maestro de validación?
- ¿Se han determinado que metodologías serán validadas?
- ¿Cuanto tiempo se espera que tomen cada uno?
- ¿Están los criterios de aceptación fuera de línea?
- ¿Cuando se habla del método analítico que especificaciones se tendrán?
- ¿Quien ejecutará los protocolos?
- ¿Habrá un grupo de validación?
- ¿Quién firmará?

HAGA LAS INTENCIONES CLARAS

Es necesario considerar los objetivos en el desarrollo de un PMV. Cumpliendo con las regulaciones de USA y los GMP's o bien si se quiere exportar a otros países?

Técnicamente, si se envía un producto a otra ciudad, se tienen que seguir sus GMP's y la farmacopea del país.

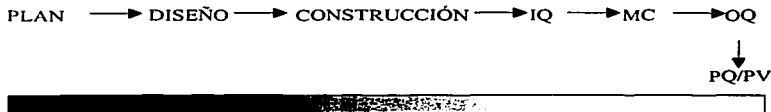
Hoy en día, por supuesto, un gran empuje son las ISO 9000, y cada vez más laboratorios siguen estos estándares, todas las intenciones y objetivos deben ser identificados y claros deben quedar contestadas las siguientes preguntas:

1. ¿Hay otras organizaciones como la FEUM, que identifiquen parte de la validación?
2. ¿Existe un entrenamiento previo para la elaboración del PMV?
3. ¿Como se entrenará al equipo que conforme el PMV?
4. ¿Como se entrenará a la gente para realizar la validación?
5. ¿El PMV será una buena herramienta?

Se debe de tomar el PMV, leerlo y entenderlo, para decir si estamos haciendo las cosas y como debemos hacerlas. El PMV dirige como se realizará la validación. Como se harán los muestreos y como se manejarán los resultados, si se conocen los métodos analíticos que se van a emplear. Si se tiene una idea del número de PNO's que se necesitarán. Generalmente en un plan maestro, se tiene una lista de procedimientos. Si no se cuentan con PNO's o un diseño de los mismos, pero se tiene en mente los tipos de procedimientos que se necesitarán. Existen programas en computadora o libros, que ayudan a desarrollar dichos procedimientos.

COMO INICIAR EL PMV

PROYECTO DE VALIDACIÓN



DOCUMENTO DE VALIDACIÓN



EJECUCIÓN DE LA VALIDACIÓN

Figura 3.1 Proyecto de validación.

En esta figura se trata de enfatizar la validación, el plan maestro y los conceptos de validación donde se observa que todo es un proceso continuo.

ESTABLECIMIENTO DE LOS DETALLES

En el PMV hay que intentar ser claros, concisos y que todo el personal involucrado lo entienda, no se trata de abrir una caja de pándora. Tiene que ser sencillo. La introducción tiene que ser breve pero clara. Dejar establecido quien o quienes firmarán el PMV y quienes son los responsables del mismo.

DEFINIENDO UN PLAN MAESTRO DE VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS.

Cada día que pasa, se da mayor énfasis en la validación de métodos analíticos, como parte de la preparación de la industria farmacéutica en un rol para la armonización global. Anteriormente la FDA y la ICH definieron claramente los requerimientos mínimos para la validación de procesos y métodos analíticos utilizados en la formulación, producción, análisis y distribución de productos farmacéuticos terminados. De hecho la FDA propuso correcciones en las regulaciones de las GMP's incluidas en la sección 210.3(b)(25), la cual define la validación de métodos analíticos como "El establecimiento, a través de evidencia documentada, de un alto grado de seguridad en la precisión de los resultados que un método analítico se comporta de manera consistente, reflejada en la característica de calidad con el producto analizado".

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

La FDA también ha propuesto añadir una nueva subparte L a la parte 211, titulada "Validación" la cual consiste de 2 regulaciones: Sección 211.220 para la "Validación de Procesos" y la Sección 211.222 para la "Validación de Métodos". La Sección 211.222 requiere de procedimientos para establecer y documentar la precisión, linealidad, especificada, reproducibilidad y cualquier otro atributo necesario para validar métodos analíticos. La validación será requerida para conocer los datos existentes para registros de laboratorios proporcionado en la sección 211.194 (a) (2).

El desarrollo y validación de métodos analíticos en las fases tempranas del desarrollo del medicamento son hoy en día una prueba invaluable en la aprobación del proceso. La falta de la validación puede ciertamente resultar en un retraso importante en la aprobación o rechazo del producto farmacéutico así como en una posible falla.

La validación de métodos analíticos incluyen tanto objetivos regulatorios como técnicos. En mi experiencia, la necesidad de validar un método analítico en particular, es a menudo revelado posteriormente en el desarrollo del medicamento, mediante la incorporación de profesionales de manera regulatoria y con la calidad esperada. Con responsabilidad para cumplir en curso con las regulaciones de las BPF's hasta las submisiones finales de la FEUM y la aprobación del producto ellos deben asegurarse de que los métodos utilizados para todos los productos farmacéuticos están validados. En muchas instancias, se ha encontrado que muchos de estos requerimientos individuales, parámetros de la validación de procesos, son independientes de la parte analítica y del objetivo técnico del mismo método. También a menudo, se asume que la validación es una serie de pasos definidos que cualquier método analítico puede pasar, para calificar y poder usarse en el mercado de productos farmacéuticos. De hecho, la validación del método analítico es la parte final en un proceso dinámico similar al que pasa un producto farmacéutico desde su desarrollo, o bien si se requiere de la implementación únicamente del método analítico hasta la aprobación del producto final. La validación del método analítico inicia con la definición del objetivo técnico. Esto procede desde la selección hasta el desarrollo necesario para asegurar que el método conoce el objetivo técnico. Progresando con la preparación del procedimiento de aprobación final y el protocolo que define los parámetros específicos de la validación, se concluye con la puesta en marcha de la validación formal. Una validación

exitosa garantiza que tanto los objetivos técnicos como los regulatorios del método analítico han sido completados.

Desde entonces, una validación exitosa requiere de un esfuerzo cooperativo de los diferentes departamentos involucrados, incluyendo asuntos regulatorios, control de calidad, la sección de desarrollo analítico, esto es esencial tanto que la organización ha definido bien un Plan Maestro de Validación (PMV) para métodos analíticos (PMVMA). No obstante, la culminación exitosa de objetivos técnicos y regulatorios requieren de un total soporte administrativo.

3.3 REGULACIÓN EN UN PMVMA.

Un buen desarrollo de un PMVMA debe claramente definir los papeles y responsabilidades de cada departamento involucrado en la validación de métodos analíticos. Preferentemente, esto es establecido dentro del Manual de Aseguramiento de la Calidad. El departamento de Asuntos Regulatorios debe definir los objetivos regulatorios del método. Por ejemplo, un método analítico utilizado para identificar materia prima recibida de un proveedor debe ser completamente diferente a la forma en como identificar un medicamento en una formulación dosificada en un multicomponente sólido.

Asuntos regulatorios también debe determinar el alcance de los métodos. En primera instancia están los límites simples de prueba de los objetivos técnicos, como son pruebas de aprobado / rechazado o presencia de / ausencia de, para una impureza o mejor entendiendo como método indicador de estabilidad, el cuál debe concernir con las concentraciones actuales de impurezas. Ambos métodos son utilizados en la cuantificación pero en muy diferentes caminos.

Una vez que el objetivo y el alcance han sido determinados, los profesionales de asuntos regulatorios pueden consultar las guías publicadas por el CNQFB, FDA, ICH, USP, ASTM, definiendo los parámetros específicos como son **Linealidad, Exactitud, Precisión, Especificidad, Reproducibilidad, Estabilidad, Límite de Detección, Límite de Cuantificación, Robustez y Tolerancia**; lo cual conforma una validación. Asuntos

Regulatorios, debe aplicar todo el criterio para cada parámetro como es el actual límite de detección basado con datos toxicológicos y especificaciones de pureza basados en potencia y los requerimientos finales utilizados.

EL PAPEL DE LA INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO ANALÍTICO EN UN PMVMA.

Indudablemente, la mayor responsabilidad para la generación de un método analítico validado recae en el Departamento de Desarrollo Analítico. Deben seleccionar una técnica analítica la cual cumpla con los objetivos técnicos dados por Asuntos Regulatorios. Antes de la demostración de la factibilidad del método en el control de calidad ambiental (QC), este es responsable de escribir el procedimiento de prueba final y el protocolo de validación. Una vez aprobado, se sigue dicho protocolo durante los experimentos de validación y se prepara un reporte final el cual detalla los resultados experimentales.

DEFINIENDO EL OBJETIVO TÉCNICO.

Desde el punto de vista de la química analítica, el primer paso en la validación de un método analítico comienza con la definición del objetivo técnico. Esto solo puede ser completado por una comunicación cooperativa entre el químico analista, profesionales, reguladores, requerimientos individuales del método analítico (el químico de síntesis, el toxicológico, el formulador, etc), y aquellos que ponen en marcha el método (Departamento de Control de Calidad). Por ejemplo, los requerimientos analíticos para el análisis de residuos de solvente, como es el isopropanol en un producto terminado serán totalmente diferentes para la determinación de residuos de catalizador de estaño en el mismo producto. Mientras que ambos métodos pueden categorizarse como analizadores de impurezas, los requerimientos para los parámetros individuales como son exactitud, precisión y límite de detección, serán dramáticamente diferentes debido a las diferencias en toxicidad para cada una de estas impurezas.

Un método cromatográfico puede tener una precisión más o menos del 2.0 % para una especificación requerida del nivel de 200 ppm. Contrariamente, un método por



espectrofotometría atómica, la cuál es utilizada para cuantificar estaño, puede tener una precisión de más o menos 20 % para una especificación de nivel requerido de 0.5 ppm. La precisión en el resultado de ambos métodos difieren por un orden de magnitud, por lo que los métodos que se derivan de cada una de éstas técnicas pueden ser aceptables, basados en los objetivos técnicos establecidos.

SELECCIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO.

Una vez que el método analítico ha sido seleccionado, el químico analista debe definir claramente el método analítico. Este debe completarse en una variedad de caminos. En muchos casos, es prudente llevar a cabo una búsqueda literaria la cuál incluye fuentes como la FEUM, la USP, el Formulario Nacional y la Asociación de Químicos Analíticos oficiales, el Libro de Métodos, y adicionalmente las guías como La Guía de Validación de Métodos Analíticos. Más de estas referencias están disponibles en nuestro país. Frecuentemente este acercamiento a las referencias, ahorra tiempo y asegura el no estar dando solo vueltas. En conjunto con las fuentes literarias, el químico analista debe de contar con la experiencia previa y la experiencia de sus colaboradores.

DESARROLLANDO EL MÉTODO ANALÍTICO.

Todos los métodos analíticos, desarrollados de manera apropiada o tomados de compendios o referencias literarias, requieren de una calidad de métodos en relación a los ya establecidos. Siempre que se desea hacer una modificación simple de un método existente para una nueva formulación, se requiere de investigación de los parámetros del método como son adecuabilidad del sistema y especificidad. En primera instancia, un cambio de color en la tableta o en el sabor del jarabe donde el potencia de coelución de un excipiente o degradación del producto de un excipiente requiere de cambios en los requerimientos de resolución de la adecuabilidad del sistema. Así se busca en la literatura para tener una referencia aplicable, el método llamado "Blue Sky" (azul celeste) se hace necesario. Se llama así a la experiencia de una técnica de química analítica para evaluar la naturaleza de

la entidad química bajo investigación y la matriz en la cual está presente. También se tiene otra consideración en la presencia de potencial de los componentes que intervienen.

El éxito o fracaso de proyectos de esta naturaleza es directamente atribuible a la capacidad técnica del analista y a la amplitud de los conocimientos en varias técnicas analíticas. Problemas de esta naturaleza son usualmente manejados por los miembros de mayor experiencia o de aquellos que poseen conocimientos avanzados. Métodos analíticos que son utilizados normalmente en el Laboratorio de Control de Calidad, muestran cuando es posible, utilizar el equipo de uso más común en la industria farmacéutica, lo cual es independiente del funcionamiento de la metodología analítica y que está sea fácilmente transferible. Esto es obvio ya que un método de análisis para muestras en disolución que utiliza LC/MS/MS no es muy factible por el costo de análisis, pero si un método para disolución es espectrofotométrico es más sencillo y, de bajo costo. No es tan obvio si el químico de desarrollo quien implemento por ejemplo un método por HPLC con condiciones cromatográficas tales como flujo de 1.25 ml/min utiliza bombas hechas por el proveedor A, cuando todas las bombas del Laboratorio de Control de Calidad son hechas por el proveedor B, las cuáles solamente controlan flujos de 0.1 ml/min. Un ejemplo de un método el cuál es dependiente de la técnica, requiriendo 10 veces la dilución de la muestra usando una pipeta volumétrica de 0.5 ml y un matraz volumétrico de 5 ml en lugar de manipular más fácilmente la dilución usando una pipeta volumétrica de 5 ml y un matraz volumétrico de 50 ml.

DEMOSTRANDO LA FACTIBILIDAD DEL MÉTODO.

Cuando un método analítico existente es utilizado para una nueva aplicación, o un desarrollo recientemente llevado a cabo "blue sky" el requerimiento concerniente a los registros de laboratorio, requieren que la disponibilidad de todos los métodos probados hayan sido verificados bajo las actuales condiciones de uso. No obstante, en esta fase del proceso de validación, la química analítica debe demostrar experimentalmente la capacidad del método para cumplir con los objetivos técnicos y regulatorios. En muchos casos, este camino involucra definir parámetros críticos del sistema disponible, como son resolución y

terminación para técnicas cromatográficas. Hasta este punto, la aceptación del criterio para relacionar parámetros de validación debe también definirse. Los requerimientos de precisión del método no deben de estar en límites más bajos que la precisión del sistema de instrumentación utilizado. Por ejemplo es impráctico establecer un método cuyo requerimiento de precisión es de $\pm 2.0\%$, si la técnica como la espectroscopia atómica es solamente precisa para un $\pm 5.0\%$.

Si la experimentación para definir los detalles de la validación como es el rango de la Linealidad del Método, no ha sido realizado durante el desarrollo del mismo, esto puede hacerse en ésta fase del proceso para asegurar la validez del método.

Una área que es frecuentemente pasada por alto, es la estabilidad del estándar y de la muestra. Siempre es importante determinar la estabilidad de las muestras preparadas y de los estándares. Si es requerido que las muestras y los estándares sean preparados con anterioridad, la estabilidad de las muestras y estándares a considerarse, entonces estas soluciones deben situarse en un auto muestreador por 12 a 24 hrs, o más cuando grandes volúmenes de muestra y largos tiempos de corrida están involucrados (robustez).

DOCUMENTACIÓN DEL MÉTODO.

Una vez que el método analítico ha sido desarrollado, debe estar documentado. No hay reglas específicas que indiquen como debe redactarse un método analítico, la industria farmacéutica generalmente esta de acuerdo en que éste debe ser lo suficientemente detallado para poder asegurar que es una metodología reproducible y competente con un equipo comparable.

Los dos puntos que requieren de una mayor atención que la mayoría de los métodos es LA ADECUABILIDAD DEL SISTEMA Y LA SECUENCIA DE PRUEBAS. Los requerimientos para la adecuabilidad del sistema indican la capacidad analítica de la instrumentación empleada y define los parámetros que dan la precisión del método requerido. Por ejemplo, es poco práctico que la Desviación Estándar Relativa (D.E.R.) para

análisis donde se requiere una solución estándar al 1.0 % donde la precisión del sistema es solamente del ± 1.5 %. Es poco práctico que se requiera de muestras por duplicado donde la D.E.R. deba ser ≤ 1.5 % cuando el requerimiento para estos análisis D.E.R. ≤ 2.0 %. Al mismo tiempo, la secuencia de las pruebas deben estar documentadas en el método, y deben estar definidos de la siguiente manera:

1. ¿Cuántos análisis para un estándar y muestras son requeridos?
2. ¿Cuántas muestras deben ser analizadas en una secuencia entre análisis de estándares?
3. ¿Las muestras pueden ser analizadas utilizando estándares con el bracketing, se deben promediar los estándares o considerar los primeros?
4. ¿Se corren estándares al final del análisis para confirmar que permanece la adecuabilidad del sistema, y cuales son los requerimientos para analizar el valor del estándar?

Fuera de definir la secuencia de las pruebas, dos analistas deben de tomar los mismos datos analíticos y generar dos diferentes resultados analíticos. Adicionalmente, en una secuencia es necesario definir la precisión del método y el lote de prueba utilizado para la validación.

DESARROLLANDO EL PROTOCOLO DE VALIDACIÓN.

El desarrollo del protocolo de validación es posiblemente el paso más importante para el proceso de validación, porque es la culminación de todas las condiciones regulatorias y técnicas para el desarrollo del método. El protocolo debe definir los parámetros analíticos necesarios y las pruebas específicas necesarias para demostrar la validez del método analítico. El protocolo debe tener los criterios de aceptación de cada parámetro a evaluar, adicionalmente el protocolo debe definir el número de réplicas, el formato para reportar. En pocas palabras el protocolo de validación instruye al analista de cómo validar un método analítico.

LLEVANDO A CABO LA VALIDACIÓN.

Una vez que los objetivos regulatorios y técnicos han sido definidos, el método desarrollado y documentado y el protocolo de validación aceptado, lo que sigue es llevar a cabo la validación. El analista debe de realizar las pruebas como están descritas en los métodos. Una vez llevado a cabo esto se debe de escribir un reporte mostrando todos los resultados y observaciones que se hayan encontrado durante la validación. El reporte debe de contener todos los datos incluyendo las referencias, equipo utilizado así como los cromatogramas, espectros, etc.

Ante la necesidad de validar el método analítico, deben de estar todos los pasos claramente detallados en un período de días o semanas. La experiencia muestra que un método tempranamente definido durante el proceso de desarrollo del producto farmacéutico y redefinirlo durante el proceso de desarrollo de éste los resultados de este método pueden tener tolerancia y robustez.

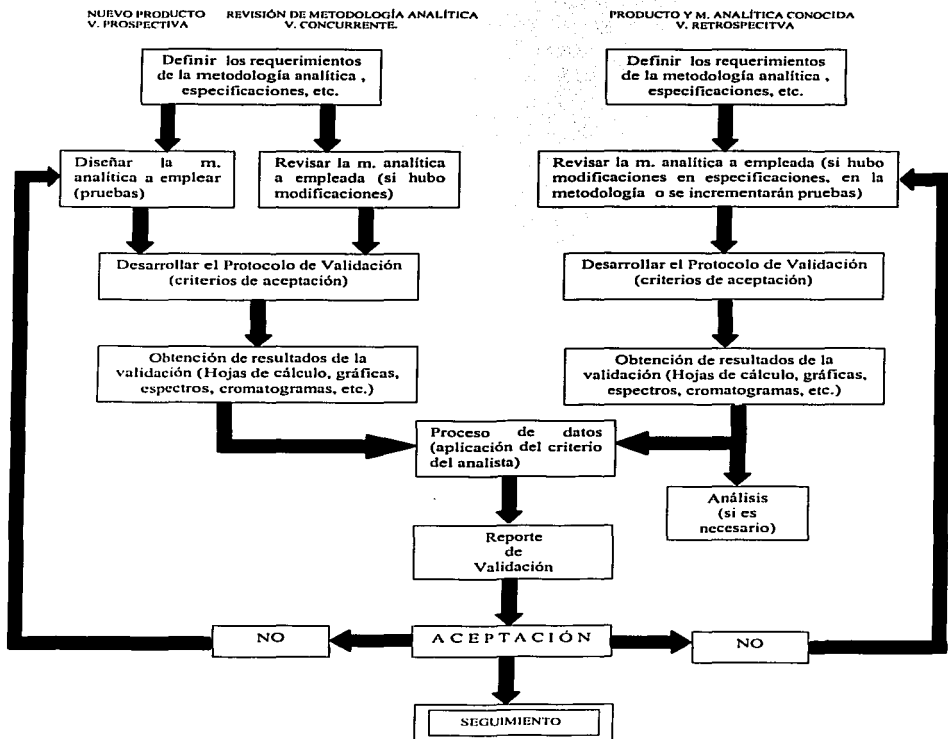
CAPÍTULO 4

ELABORACIÓN DEL PLAN MAESTRO DE VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS

CONTENIDO:

- 4.1 Ciclo de vida de validación de métodos analíticos.
- 4.2 Formatos para el protocolo y reporte de validación de métodos analíticos.
- 4.3 Lista de productos farmacéuticos para el 2003-2004.

4.1 CICLO DE VIDA DE LA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS



4.2 En las siguientes páginas se presentan los formatos para la elaboración del protocolo de validación y del reporte de validación de un método analítico.

NOMBRE DEL LABORATORIO FARMACÉUTICO						LOGO
FECHA DE EMISIÓN	FECHA DE VIGENCIA	PROXIMA REVISIÓN	REVISIÓN N°	CÓDIGO	SUSTITUYE A:	PAGINA
DEPARTAMENTO						
VALIDACIÓN						
TÍTULO						
PROTOCOLO DE VALIDACIÓN PARA EL MÉTODO ANALÍTICO DE (.....) POR (.....).						

I. OBJETIVO

Cumplir con las expectativas establecidas para llevar a cabo la Validación de un Método Analítico y demostrar mediante éste, que la metodología analítica cumple los propósitos para lo que fue diseñada.

II. ALCANCE

El siguiente estudio aplica a la validación del método analítico por cromatografía de líquidos de alta resolución para el análisis de la cuantificación de (...) como materia prima, producto intermedio y producto terminado.

III. RESPONSABILIDAD

Es responsabilidad del personal involucrado en la evaluación de materias primas, producto intermedio y producto terminado el conocer y emplear técnicas analíticas validadas.

Es responsabilidad del Gerente de Aseguramiento de Calidad y del Responsable Sanitario, mantener actualizados los registros de validación de métodos analíticos.

IV. INTRODUCCIÓN

La Validación de un Método Analítico es el proceso por el cual queda establecido por estudios experimentales, que la capacidad del método satisface los requisitos para la aplicación analítica deseada. Esta se fundamenta en la determinación de diversos parámetros que se aplican de acuerdo con la categoría a la que pertenezcan.

Para el desarrollo de un nuevo producto es necesario la utilización de métodos analíticos que permitan cuantificar el producto en forma de materia prima o como principio activo de la formulación con un alto grado de confiabilidad.

Con el fin de poder asegurar que la información que se someta ante las autoridades sanitarias competentes, para el registro de un nuevo producto cumpla con los requerimientos establecidos, se considera adecuado que en este proceso se involucre personal de las áreas de asuntos regulatorios y de aseguramiento de calidad, quienes serán los responsables de revisar los requerimientos y parámetros del proceso de validación.

En el plan maestro de validación se deben establecer claramente las responsabilidades de cada uno de los departamentos involucrados en la validación de los métodos analíticos.

ELABORO	REVISO	APROBO	AUTORIZO
Fecha:	Fecha:	Fecha:	Fecha:

NOMBRE DEL LABORATORIO FARMACÉUTICO**LOGO**

FECHA DE EMISIÓN	FECHA DE VIGENCIA	PROXIMA REVISIÓN	REVISIÓN N°	CODIGO	SUSTITUYE A:	PAGINA
------------------	-------------------	------------------	-------------	--------	--------------	--------

**DEPARTAMENTO
VALIDACIÓN**

TITULO

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN PARA EL MÉTODO ANALÍTICO DE (.....) POR (.....).

VARIACIONES Y REGISTRO DE CAMBIOS

EMISION	VIGENCIA	MOTIVO DEL CAMBIO

VIA DE DESARROLLO

El siguiente protocolo esta basado en los criterios establecidos en la Guia de Validación de Métodos Analíticos editada por el Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos de México, A.C. 2002, que considera los siguientes parámetros:

ESPECIFICIDAD

Partiendo en la experiencia en el análisis de la muestra, se deben establecer las posibles sustancias interferentes, y adicionar cantidades conocidas de estas, solas o combinadas a la muestra y evaluar su respuesta al método, bajo las mismas condiciones de análisis.

Para métodos de contenido, potencia y valoración: Se deben analizar placebos del producto, como lo indica el método, muestras de producto terminado y materia prima del analito.

Metodología:

Someter las muestras a degradación bajo las condiciones que marca la siguiente tabla:

MUESTRA	LUZ NATURAL	pH=3.0 ácido	pH=10.0 básico	TEMP. 105°C
MATERIA PRIMA	XXX	XXX	XXX	XXX
PRODUCTO TERMINADO	XXX	XXX	XXX	XXX

Una vez transcurrido el tiempo considerado de degradación, realizar el procesamiento de las muestras como lo marca la técnica analítica; para la materia prima proceder como en la preparación del

ELABORO	REVISO	APROBO	AUTORIZO
Fecha:	Fecha:	Fecha:	Fecha:

NOMBRE DEL LABORATORIO FARMACÉUTICO						LOGO
FECHA DE EMISIÓN	FECHA DE VIGENCIA	PRÓXIMA REVISIÓN	REVISIÓN N°	CÓDIGO	SUSTITUYE A:	PÁGINA
DEPARTAMENTO						
VALIDACIÓN						
TÍTULO						
PROTOCOLO DE VALIDACIÓN PARA EL MÉTODO ANALÍTICO DE (.....) POR (.....).						

estándar y para el producto terminado proceder como en la preparación de la muestra e inyectar por duplicado cada muestra al HPLC.

Estudiar los cromatogramas obtenidos y comparar con una inyección de un estándar de referencia a condiciones normales para verificar que alguna posible respuesta no interfiera con el análisis de interés.

Criterio de Aceptación:

La respuesta del método únicamente debe ser debida al analito.

LINEALIDAD DEL SISTEMA

Un analista debe preparar por lo menos por triplicado 5 niveles de concentración de la solución de referencia. La concentración central debe ser igual a la que se prepara en la solución de referencia en el método o en ciertos casos, la concentración que represente el 100% en la muestra procesada para su medición.

Metodología:

Preparar las siguientes soluciones:

Procedimiento:

Las 15 soluciones preparadas para determinar la Linealidad del Sistema se inyectan por triplicado en el cromatógrafo de líquidos de alta resolución, bajo las condiciones cromatográficas establecidas en la técnica a validar.

Se registran las áreas obtenidas de la respuesta del analito en la tabla 2 del anexo 1

Por último se realizan los cálculos estadísticos necesarios para esta prueba

Criterio de Aceptación:

$$D.E.R. \leq 1.5\%$$

$$r \geq 0.99$$

$$r^2 \geq 0.98$$

ELABORO	REVISÓ	APROBO	AUTORIZO
Fecha:	Fecha:	Fecha:	Fecha:

NOMBRE DEL LABORATORIO FARMACÉUTICO						LOGO
FECHA DE EMISION	FECHA DE VIGENCIA	PROXIMA REVISION	REVISION N°	CÓDIGO	SUSTITUYE A:	PAGINA
DEPARTAMENTO						
VALIDACIÓN						
TITULO						
PROTOCOLO DE VALIDACIÓN PARA EL MÉTODO ANALÍTICO DE (.....) POR (.....).						

adicionadas deben ser analizadas por un mismo analista bajo las mismas condiciones utilizando como referencia la sustancia empleada en la adición de la muestra. Determinar la cantidad recuperada del analito.

Metodología:

Preparar las siguientes soluciones:

Procedimiento:

Las 9 soluciones preparadas para determinar la Linealidad del Método se inyectan por triplicado y la solución estándar de referencia por cuadruplicado en el cromatógrafo de líquidos de alta resolución, bajo las condiciones cromatográficas descritas en la técnica a validar. Calcular la cantidad de recobro del analito y registrar los resultados en la tabla 4 del anexo 1.

Finalmente realizar los cálculos estadísticos necesarios para esta prueba.

Criterios de Aceptación:

D.E.R. \leq 2.0%

m= 1

b= 0

Porcentaje de recobro = 98 – 102%

EXACTITUD Y REPETIBILIDAD AL 100%

Un analista debe analizar la muestra con el método, para determinar el contenido del analito. El mismo analista debe preparar por lo menos 6 muestras adicionadas del analito, por ejemplo utilizando la mitad de la muestra analítica que originalmente requiere el método y adicionar el analito (puede ser una sustancia de referencia secundaria) hasta completar lo que represente el 100 % de éste en la muestra. Las muestras adicionadas deben ser analizadas por un mismo analista bajo las mismas condiciones utilizando como referencia la sustancia empleada en la adición de la muestra. Determinar la cantidad recuperada del analito.

Metodología:

ELABORÓ	REVISÓ	APROBÓ	AUTORIZÓ
Fecha:	Fecha:	Fecha:	Fecha:

NOMBRE DEL LABORATORIO FARMACÉUTICO						LOGO
FECHA DE EMISIÓN	FECHA DE VIGENCIA	PROXIMA REVISIÓN	REVISIÓN N°	CÓDIGO	SUSTITUYE A:	PAGINA
DEPARTAMENTO						
VALIDACIÓN						
TÍTULO						
PROTOCOLO DE VALIDACIÓN PARA EL MÉTODO ANALÍTICO DE (.....) POR (.....).						

Preparar las siguientes soluciones:

Procedimiento:

Criterios de Aceptación:

D.E.R. \leq 2.0%

Porcentaje de recobro = 98 – 102%

PRECISIÓN (REPRODUCIBILIDAD)

Se analiza por triplicado una muestra homogénea de la materia prima que contenga un nivel cercano o igual al 100% o una muestra homogénea cuyo contenido esté incluido en el intervalo lineal de concentración de Linealidad del método, en dos días diferentes y por dos analistas diferentes. Utilizar de preferencia la misma sustancia de referencia y los mismos instrumentos y/o equipos.

Criterio de Aceptación:

Desviación Estándar Relativa = 2.0%

No mayor a una magnitud preestablecida, acorde a la especificación del analito en la muestra.

ESTABILIDAD ANALÍTICA DE LA MUESTRA (MATERIA PRIMA Y PRODUCTO TERMINADO)

El análisis debe establecer la etapa de análisis en la cual se desea evaluar la estabilidad, además de determinar si en dicha etapa es posible fraccionar (muestras dependientes) o no (muestras independientes) y las condiciones de almacenaje.

METODOLOGÍA:

ELABORO	REVISO	APROBO	AUTORIZO
Fecha:	Fecha:	Fecha:	Fecha:

NOMBRE DEL LABORATORIO FARMACÉUTICO						LOGO
FECHA DE EMISIÓN	FECHA DE VIGENCIA	PROXIMA REVISIÓN	REVISIÓN N°	CÓDIGO	SUSTITUYE A:	PAGINA
DEPARTAMENTO						
VALIDACIÓN						
TÍTULO						
PROTOCOLO DE VALIDACIÓN PARA EL MÉTODO ANALÍTICO DE (.....) POR (.....).						

Se determina mediante la comparación de los resultados del análisis inicial de 3 muestras con los obtenidos de las muestras después de permanecer un tiempo determinado en diferentes condiciones.

Se preparan por triplicado muestras cuya concentración corresponda al 100% o cercana, almacenar el volumen necesario de las muestras a temperatura ambiente (15°C – 30°C) y en refrigeración (2°C – 8°C) por 24 horas y 48 horas.

Realizar la determinación de la concentración del analito en los intervalos de 24 y 48 horas siguiendo la técnica a validar. El re-análisis se lleva a cabo en las mismas operaciones de operación, utilizando una solución de referencia recién preparada para cada intervalo de tiempo, de acuerdo a lo establecido en el método analítico. La determinación debe ser efectuada por el mismo analista, reportar los resultados obtenidos en la tabla 7 del anexo I y posteriormente efectuar los cálculos estadísticos necesarios para esta prueba.

Criterios de Aceptación:

La muestra es estable si el intervalo de confianza (I.C.) para la diferencia de la media de la muestra con respecto a la media del análisis inicial incluye el valor de cero y/o a la magnitud o el efecto no exceda del $\pm 2.0\%$.

VII. EQUIPO Y MATERIAL EN PROCESO:

- Cromatógrafo de Líquidos de Alta Resolución (HPLC).
- Material de vidrio calibrado.
- Reactivos grado cromatográfico.
- Sustancias de referencia.

VIII. ANEXOS:

Tablas de resultados de cada prueba realizada para la validación. (ver en reporte de validación)

Resultados del tratamiento estadístico realizado a las pruebas de la validación. (ver en reporte de validación)

ELABORÓ	REVISÓ	APROBO	AUTORIZO
Fecha:	Fecha:	Fecha:	Fecha:

NOMBRE DEL LABORATORIO FARMACÉUTICO					LOGO
FECHA DE EMISIÓN	FECHA DE VIGENCIA	PROXIMA REVISIÓN	REVISIÓN N°	CÓDIGO	SUSTITUYE A: PAGINA
DEPARTAMENTO					
VALIDACIÓN					
TITULO					
PROTOCOLO DE VALIDACIÓN PARA EL MÉTODO ANALÍTICO DE (.....) POR (.....).					

IX. TÉRMINOS Y DEFINICIONES

Adecuabilidad del sistema: Verificación de que el sistema (instrumento, analista, equipo, sustancia de referencia, entre otros) opera con base a criterios preestablecidos, que permiten asegurar la confiabilidad de los resultados de un método analítico.

Análito: Componente específico de una muestra, a medir en un análisis.

Calibración: Conjunto de operaciones que determinan, bajo condiciones especificadas, la relación entre los valores indicados por un instrumento o sistema de medición, o los valores representados por una medición material y los valores conocidos correspondientes a un patrón de referencia.

Documentación: Conjunto de información que sustenta una actividad realizada.

Especificaciones: Descripción del material, sustancia o producto, que incluye la definición de sus propiedades y características, con las tolerancias de variación de los parámetros de calidad.

Especificidad: Capacidad de un método analítico para obtener una respuesta debida únicamente al analito de interés y no a otros componentes de la muestra.

Exactitud: Concordancia entre un valor obtenido empleando el método y el valor de referencia.

Estabilidad analítica de la muestra: Propiedad de una muestra, preparada para su cuantificación, de conservar su integridad físico-química y la concentración del analito, después de almacenarse durante un tiempo determinado bajo condiciones específicas.

Intervalo: Concentraciones incluidas entre la concentración superior e inferior del analito (incluyendo éstas), para las cuales se ha demostrado que el método analítico es preciso, exacto y lineal.

Linealidad: Habilidad para asegurar que los resultados obtenidos directamente o por medio de una transformación matemática definida, son proporcionales a la concentración del analito, dentro de un intervalo determinado.

Metodología de prueba: Procedimiento o grupo de procedimientos, para determinar si un producto o materia prima cumple con las especificaciones establecidas.

ELABORO	REVISO	APROBO	AUTORIZO
Fecha:	Fecha:	Fecha:	Fecha:

NOMBRE DEL LABORATORIO FARMACÉUTICO						LOGO
FECHA DE EMISIÓN	FECHA DE VIGENCIA	PROXIMA REVISIÓN	REVISIÓN N°	CÓDIGO	SUSTITUYE A:	PAGINA
DEPARTAMENTO						
VALIDACIÓN						
TÍTULO						
PROTOCOLO DE VALIDACIÓN PARA EL MÉTODO ANALÍTICO DE (.....) POR (.....).						

Método analítico: Descripción de la secuencia de actividades, recursos materiales y parámetros que se deben cumplir, para llevar a cabo el análisis de un componente específico de la muestra.

Muestra analítica: Porción del material a evaluar de acuerdo al método analítico.

Muestra adicionada: Porción representativa del material a evaluar, a la que se le adicionan cantidades conocidas del analito.

Placebo analítico: Muestra que contiene todos los componentes de un producto a excepción del analito.

Placebo adicionado: Muestra de un placebo analítico al cual se le adiciona una cantidad conocida del analito.

Precisión: Grado de concordancia entre los resultados analíticos individuales, cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes porciones de una muestra homogénea del producto o de una referencia.

Protocolo de validación: Descripción de pruebas específicas para demostrar que un proceso da resultados que cumplen con los criterios preestablecidos de manera consistente.

Recobro: Cantidad del analito determinada en el placebo adicionado o muestra adicionada, empleando el método analítico

Repetibilidad: Precisión de un método analítico, expresada como la concordancia obtenida entre determinaciones independientes realizadas por un solo analista, usando los mismos instrumentos y método.

Reproducibilidad: Precisión de un método analítico, expresada como la concordancia entre determinaciones independientes realizadas por diferentes laboratorios.

Sustancia de referencia: Sustancia de uniformidad reconocida, destinada a utilizarse en comprobaciones analíticas físicas, químicas o microbiológicas en el transcurso de las cuales sus propiedades se comparan con la sustancia en evaluación.

Tolerancia: Reproducibilidad de los resultados analíticos obtenidos, por el análisis de la misma muestra bajo diferentes condiciones normales de operación como puede ser: equipos, columnas. La robustez y la tolerancia son conceptos diferentes, ya que el primero se refiere a la influencia de factores internos del método, mientras que la tolerancia, se refiere a factores externos al método.

ELABORÓ	RÉVISO	APROBO	AUTORIZO
Fecha:	Fecha:	Fecha:	Fecha:

NOMBRE DEL LABORATORIO FARMACÉUTICO						LOGO
FECHA DE EMISIÓN	FECHA DE VIGENCIA	PROXIMA REVISIÓN	REVISIÓN N°	CODIGO	SUSTITUYE A:	PAGINA
DEPARTAMENTO						
VALIDACIÓN						
TITULO						
PROTOCOLO DE VALIDACIÓN PARA EL MÉTODO ANALÍTICO DE (.....) POR (.....).						

Validación del método analítico: Proceso por el cual se demuestra, por estudios de laboratorio, que la capacidad del método satisface los requisitos para las aplicaciones analíticas deseadas.

X: REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA:

Guía de Validación de Métodos Analíticos,

Edición 2002

Editada por el Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos México, A. C.

XI: ARCHIVO:

NOTAS:

Al término del protocolo al pie de página poner ruta de acceso y nombre del archivo.

Queda prohibido sacar copia borrar o hacer anotaciones manuscritas a los protocolos.

Cualquier copia será solicitada al Departamento de Validación y Metrología.

ELABORÓ	REVISÓ	APROBÓ	AUTORIZÓ
Fecha:	Fecha:	Fecha:	Fecha:

NOMBRE DEL LABORATORIO FARMACÉUTICO		LOGO
DEPARTAMENTO		Página
VALIDACION		
TITULO		
REPORTE DE VALIDACIÓN DEL METODO ANALÍTICO PARA LA VALORACIÓN DE (.....) POR (.....)		

RESULTADOS

Se anexan los cromatogramas o espectros (dependiendo del método analítico) de MP, PLACEBO Y PRODUCTO TERMINADO degradados de acuerdo a la tabla señalada en el protocolo de validación. En los métodos titulométricos la prueba de especificidad se puede sustituir por una prueba de identidad por cromatografía en capa fina.

ELABORO	REVISO	APROBO	AUTORIZO
Fecha:	Fecha:	Fecha:	Fecha:

NOMBRE DEL LABORATORIO FARMACÉUTICO**LOGO****DEPARTAMENTO**

Página

VALIDACION**TITULO****REPORTE DE VALIDACIÓN DEL METODO ANALÍTICO PARA LA
VALORACIÓN DE (.....) POR (.....)****LINEALIDAD DEL SISTEMA**

Nombre del Estándar: _____ Lote: _____ Peso: _____

Muestra No.	Nivel %	Concentración µg/mL	Areas
1	60.0	60.00	1211.98974
2	60.0	60.00	1217.20703
3	60.0	60.00	1208.54805
4	80.0	80.00	1616.89481
5	80.0	80.00	1614.96936
6	80.0	80.00	1617.41451
7	100.0	100.00	2030.76143
8	100.0	100.00	2036.25427
9	100.0	100.00	2028.69898
10	120.0	120.00	2442.31747
11	120.0	120.00	2438.67163
12	120.0	120.00	2429.77792
13	140.0	140.00	2847.41935
14	140.0	140.00	2841.55965
15	140.0	140.00	2835.61206

Químico Analista: _____

Firma: _____

ELABORO	REVISO	APROBO	AUTORIZO
Fecha:	Fecha:	Fecha:	Fecha:

NOMBRE DEL LABORATORIO FARMACÉUTICO

LOGO

DEPARTAMENTO

Página

VALIDACION

TITULO

REPORTE DE VALIDACIÓN DEL METODO ANALÍTICO PARA LA VALORACION DE (.....) POR (.....)

ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA LA LINEALIDAD DEL SISTEMA.

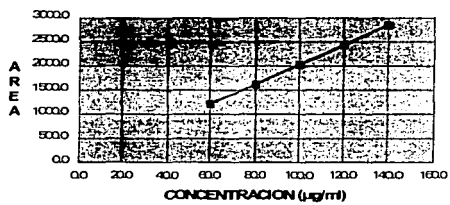
ICON C. I	LINEALIDAD DEL SISTEMA DE			SOLUCION ORAL					
	AREA S	AREA S	AREA S	X2	Y ²	Y ²	Y ²	X.Y.	X.Y.
1000	1271.0384	1271.0384	1271.0384	1000000	14189.13	148742.56	148742.56	72793.3	72793.4
8000	10618898	10618898	10618898	6400000	290408.0	261892.0	261892.0	126150.0	126150.0
6000	21027964	21027964	21027964	3600000	192200.0	414000.0	414000.0	415950.0	210279.6
12000	24422792	24422792	24422792	14400000	103840.0	587113.0	587113.0	210279.6	244227.9
14000	24974156	24974156	24974156	19600000	830720.0	830482.2	830482.2	314081.7	314081.7

X.Y.	F. 1	F. 2	F. 3
72793.3	210279.6	210279.6	210279.6
126150.0	210279.6	210279.6	210279.6
210279.6	210279.6	210279.6	210279.6
210279.6	210279.6	210279.6	210279.6
314081.7	210279.6	210279.6	210279.6

F. 1	F. 2	F. 3
434303.6	411382.8	434303.6
434303.6	434303.6	434303.6
411382.8	411382.8	411382.8
411382.8	411382.8	411382.8
411382.8	411382.8	411382.8

SUM X =	51000.0	Y =	1311111.0
SUM Y =	2910000.0	Y ² =	17188884.0
SUM X ² =	1020000.0	SUM Y =	3045000.0
SUM Y ² =	341113200.0	SUM X ² =	6161361.0
SUM X.Y =	111046500.0	MEDIA Y =	263600.0
S ² =	3000.0	DE =	54.7722557
r =	5000.0	DE X =	63.526777

LINEALIDAD DEL SISTEMA



ELABORO	REVISO	APROBO	AUTORIZO
Fecha:	Fecha:	Fecha:	Fecha:

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

NOMBRE DEL LABORATORIO FARMACÉUTICO**LOGO**

DEPARTAMENTO

Página

VALIDACION

TITULO

**REPORTE DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA LA
VALORACIÓN DE (.....) POR (.....)****PRECISIÓN DEL SISTEMA**

Nombre del Estándar: _____ Lote: _____ Peso: _____

Muestra No.	Nivel	Concentración µg/mL	Areas
1	100.0	100.00	2033.45406
2	100.0	100.00	2033.95557
3	100.0	100.00	2026.26265
4	100.0	100.00	2032.01912
5	100.0	100.00	2015.94751
6	100.0	100.00	2000.40234

Químico Analista: _____

Firma: _____

ELABORO

REVISO

APROBO

AUTORIZO

Fecha:

Fecha:

Fecha:

Fecha:

NOMBRE DEL LABORATORIO FARMACÉUTICO**LOGO****DEPARTAMENTO**

Página

VALIDACION**TITULO****REPORTE DE VALIDACIÓN DEL METODO ANALÍTICO PARA LA VALORACIÓN DE (.....) POR (.....)****ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA PRECISION DEL SISTEMA*****PRECISION DEL SISTEMA***

X	Y	Y²
0	0	0
1	7437.8765	55322006.3
2	7552.7274	57043690.8
3	7445.9870	55442722.1
4	7595.1029	57685587.5
5	7454.2806	55566299.2
6	7365.5317	54251057.8

SUM Y = 44851.50602	D.E. = 83.78350
SUM Y² = 335311363.7	D.E.R. = 1.12
MEDIA Y = 7475.251003	

ELABORO**REVISO****APROBO****AUTORIZO**

Fecha:

Fecha:

Fecha:

Fecha:

NOMBRE DEL LABORATORIO FARMACÉUTICO**LOGO****DEPARTAMENTO****Página****VALIDACION****TITULO****REPORTE DE VALIDACIÓN DEL METODO ANALÍTICO PARA LA
VALORACIÓN DE (.....) POR (.....)****FINALIDAD DEL METODO**

Nombre del Estándar: _____ Lote: _____

Nivel No.	Cantidad Adicionada (%)	Cantidad Recuperada (%)	Recobro en (%)
1	60.0	59.630	99.380
2	60.0	58.920	98.210
3	60.0	59.360	98.930
4	100.0	98.890	98.890
5	100.0	100.620	100.620
6	100.0	101.030	101.030
7	140.0	140.28	100.200
8	140.0	142.48	101.770
9	140.0	141.81	101.300

Químico Analista: _____

Firma: _____

ELABORO**REVISO****APROBO****AUTORIZO**

Fecha:

Fecha:

Fecha:

Fecha:

NOMBRE DEL LABORATORIO FARMACÉUTICO

LOGO

DEPARTAMENTO

Página

VALIDACION

TITULO

REPORTE DE VALIDACION DEL METODO ANALITICO PARA LA
VALORACION DE (.....) POR (.....)

VALIDACION DE LA PUREZA Y REPRODUCIBILIDAD DE LA 100

Nombre del Estándar: _____

Lote: _____

Muestra No.	Cantidad Adicionada (%)	Cantidad Recuperada (%)
1	100.0	99.55
2	100.0	100.47
3	100.0	100.89
4	100.0	99.50
5	100.0	100.81
6	100.0	98.54

Químico Analista: _____

Firma: _____

ELABORO

REVISO

APROBO

AUTORIZO

Fecha:

Fecha:

Fecha:

Fecha:

NOMBRE DEL LABORATORIO FARMACÉUTICO		LOGO
DEPARTAMENTO		Página
VALIDACION		
TITULO		
REPORTE DE VALIDACIÓN DEL METODO ANALÍTICO PARA LA VALORACIÓN DE (.....) POR (.....)		

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE EXACTITUD Y REPETIBILIDAD AL 100%

EXACTITUD Y REPETIBILIDAD AL 100 %		
<i>X</i>	<i>R</i>	<i>R²</i>
0	0	0
1	98.4235	9,887.18
2	100.0284	10,005.67
3	101.1399	10,229.27
4	98.0711	9,617.93
5	99.2483	9,850.23
6	99.1929	9,839.24

SUM Y =	596.104028	D.E. =	1.01595
SUM Y² =	59229.52832	D.E.R. =	1.02
MEDIA Y =	99.35067133		

ELABORO	REVISO	APROBO	AUTORIZO
Fecha:	Fecha:	Fecha:	Fecha:

NOMBRE DEL LABORATORIO FARMACÉUTICO**LOGO****DEPARTAMENTO****Página****VALIDACION****TITULO****REPORTE DE VALIDACIÓN DEL METODO ANALÍTICO PARA LA
VALORACIÓN DE (.....) POR (.....)****REPRODUCIBILIDAD DEL METODO**

Nombre del Producto Utilizado: _____

Lote: _____

Muestra No.	Dia 1		Dia 2	
	Analista 1	Analista 2	Analista 1	Analista 2
1	98.62	99.47	99.19	97.95
2	100.48	99.30	98.86	98.96
3	100.24	101.27	98.08	99.66

Químico Analista 1: _____

Firma: _____

Químico Analista 2: _____

Firma: _____

ELABORO**REVISO****APROBO****AUTORIZO**

Fecha:

Fecha:

Fecha:

Fecha:

NOMBRE DEL LABORATORIO FARMACÉUTICO

LOGO

DEPARTAMENTO

Página

VALIDACION

TITULO

REPORTE DE VALIDACIÓN DEL METODO ANALÍTICO PARA LA VALORACIÓN DE (.....) POR (.....)

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA REPRODUCIBILIDAD DEL METODO

PRECISION (REPRODUCTIBILIDAD)

ANALISTA

	1	2	y ^a	y _{ij}	y ^a i _j	y ^a i...	y ^a i...
DIA	98.6200	99.4700	9725.9034	9894.2809	299.3900	89634.3721	595.5200
	100.4800	99.3000	10096.2304	9860.4900	296.1300	87692.9769	Y ₂ ...
	100.2900	101.2700	10058.0841	10255.6129	300.0400	90024.0016	593.4400
	99.7000	969000	9838.6561	9389.6100	293.4000	86083.5600	352171.034
2	98.8600	97.9000	9773.2996	9584.4100			y...
	98.0800	98.6000	9619.6864	9721.9600			1188.9600

MEAN y	99.0800	$\sum y_{ij}^2$	3534.0911	SCd =	0.361533
MEAN y'	9818.1854	$\sum y^a i...$	706815.104	SCg =	9.119533
D.E	1.2086	$\sum \sum y^a ijk$	117818.225	SCe =	6.587933
D.E.R.	1.2198				

TABLA DE ANÁLISIS DE VARIANZA

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	STAT. DE CUADRADOS	MEAN DE CUADRADOS	F _{crit}	F ₀₅
ANALISTA	g ₁ = 2-1 = 1	0.36053	0.36053	0.079068373	JR.51000
DIA	g ₂ = 12-12 = 2	9.11953	4.55977	5.537113308	6.06000
ERROR	g ₃ = (3-12+2)=8	6.58793	0.82349	-----	-----

REPETIBILIDAD DEL METODO ANALITICO

DESVIACION ESTANDAR RELATIVA TOTAL

REPETIBILIDAD = ± 0.907464416

MEAN TOTAL 99.08000
D.E T. 1.20861
D.E.R.T. 1.22

ELABORO

REVISO

APROBO

AUTORIZO

Fecha:

Fecha:

Fecha:

Fecha:

NOMBRE DEL LABORATORIO FARMACÉUTICO

LOGO

DEPARTAMENTO

Página

VALIDACION

TITULO

REPORTE DE VALIDACIÓN DEL METODO ANALÍTICO PARA LA VALORACIÓN DE (.....) POR (.....)

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA ESTABILIDAD DE LA MUESTRA

ESTABILIDAD DE LA MUESTRA ANALITICA

	101.7800	102.8800	102.4700	102.3400	102.7800	101.0808	100.6779	101.5109	103.0825
	103.1200	102.6100	102.2300	101.7000	102.6400	99.5054	99.1369	98.6230	99.5345
	102.8300	102.1200	102.0600	101.8400	102.1200	99.3095	99.2512	99.0372	99.3095
ME DIA	1025.767	1025.367	102.2533	101.9467	1025.133	99.9652	99.6887	99.3901	99.9422
VARIANZA	0.4970	0.1484	0.0424	0.0985	0.1209				
VARIANZA PONDERADA		0.2152	0.1798	0.1985	0.2000				

INTERVALO DE CONFIANZA PARA T.A./24 hrs

IC= -1.123170157 a 1.043170157

INTERVALO DE CONFIANZA PARA REF./24 hrs

IC= -1.670458991 a 0.410458991

INTERVALO DE CONFIANZA PARA T.A./48 hrs

IC= -1.313577024 a 0.666910357

INTERVALO DE CONFIANZA PARA REF./48 hrs

IC= -1.123178201 a 0.996511534

LA MUESTRA ES ESTABLE A CONDICIONES AMBIENTALES POR 24 hrs, YA QUE EN EL I.C. SE INCLUYE EL CERO

LA MUESTRA ES ESTABLE A CONDICIONES DE REF. POR 24 hrs, YA QUE EN EL I.C. SE INCLUYE EL CERO

LA MUESTRA ES ESTABLE A CONDICIONES AMBIENTALES POR 48 hrs, YA QUE EN EL I.C. SE INCLUYE EL CERO

LA MUESTRA ES ESTABLE A CONDICIONES DE REF. POR 48 hrs, YA QUE EN EL I.C. SE INCLUYE EL CERO

ELABORO

REVISO

APROBO

AUTORIZO

Fecha:

Fecha:

Fecha:

Fecha:

NOMBRE DEL LABORATORIO FARMACÉUTICO		LOGO
DEPARTAMENTO		Página
VALIDACION		
TITULO		
REPORTE DE VALIDACIÓN DEL METODO ANALÍTICO PARA LA VALORACIÓN DE (.....) POR (.....)		

CONCLUSIONES:

El Método Analítico para la Valoración Química de por el método de Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución, **QUEDA VALIDADO** bajo las condiciones establecidas en el protocolo, cumpliendo así con los criterios de aceptación que especifica el mismo. De manera que los parámetros de la validación que cumplen satisfactoriamente son:

- Linealidad del Sistema
- Precisión del Sistema
- Linealidad del Método
- Exactitud y Repetibilidad al 100%
- Reproducibilidad del Método
- Especificidad

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

En la prueba de Estabilidad de la Muestra se demostró que el analito **Es Estable** de acuerdo a los resultados del tratamiento estadístico. Por tal motivo las muestras pueden ser inyectadas al cromatógrafo hasta un tiempo máximo de 48 horas después de haber realizado el análisis, manteniendo las muestras a Temperatura Ambiente o en Refrigeración.

EN CONCLUSIÓN LA VALIDACIÓN DEL METODO ANALÍTICO DEMUESTRA POR ESTUDIOS DE LABORATORIO, QUE LA CAPACIDAD DE ESTE METODO EN ESPECIFICO, SATISFACE LOS REQUERIMIENTOS PARA LA APLICACIÓN ANALÍTICA DESEADA; ES DECIR CUMPLE CON SU PROPOSITO.

Químicos Analistas:

QFB Martha A. Zuñiga Cortés.

QFB Claudia Conde Robredo.

ELABORÓ	REVISÓ	APROBO	AUTORIZO
Fecha:	Fecha:	Fecha:	Fecha:

Queda claro que antes de ejecutar los protocolos se debe sustentar que los instrumentos y equipos a utilizar estén debidamente calibrados y calificados respectivamente. Ahora bien, si durante la ejecución de los protocolos se presentaran desviaciones, es necesario documentar la desviación y generar la hoja de control de cambios; así como las acciones correctivas que sean necesarias durante la ejecución del protocolo. Las desviaciones deben ser autorizadas por los Gerentes de Control de Calidad y Desarrollo.

Un punto importante tanto en el protocolo como en el reporte de validación es la ruta de acceso que se utiliza para ver de donde viene el documento y poder rastrearlo en caso de así requerirlo, más que nada se utiliza como un respaldo para saber donde se elaboró dicho protocolo y reporte de validación.

En caso necesario de que se requiera una revalidación se deben establecer y justificar los criterios apropiados para la revalidación del método analítico, así como mantener un control de cambios. Cualquier cambio crítico a un método analítico, da lugar a uno nuevo y por lo tanto requiere de una validación como tal. Como un ejemplo, en la tabla 4.1 se establecen cambios en el método, su impacto y el parámetro de desempeño a revalidar.

REVALIDACIÓN		
CAMBIO	IMPACTA	PARÁMETRO A REVALIDAR
Dispositivo de medición del instrumento	Variación en el sistema de medición	Precisión del Sistema Adecuabilidad del sistema.
Concentración de la solución de referencia	Exactitud del método	Linealidad del sistema y Exactitud del método
Formulación del producto	Exactitud del método	Exactitud y repetibilidad del método, linealidad del método, especificidad
Equipos	Variación del método	Tolerancia
Columna	Variación del método	Tolerancia

Tabla 4.1 Revalidación de métodos analíticos.

4.3 De acuerdo a las prioridades del laboratorio farmacéutico, en la siguiente tabla 4.2 se marca una lista de los productos farmacéuticos de importación que requieren de la transferencia tecnológica y llevar a cabo la validación del método analítico para poder quedar completo el dossier del producto para su registro ante la SSA.

TABLA DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS PARA EL PERÍODO 2003-2004.

NÚMERO	CLAVE	ORIGEN	PERIODO
1	BUAS-10	UK	Dic-2003
2	BUA-26	España	Dic-2003
3	CEAT-10	Venezuela	Julio-2003
4	CEA-20	Venezuela	Julio-2003
5	CEAL-100	Venezuela	Julio-2003
6	CIA-01	Rep. Checa	Oct-2003
7	CIM-22	Chile	Feb-2004
8	CIO-01	México	Agos-2003
9	DAO-28	México	Enero-2004
10	FIN-05	México	Marzo-2004

TABLA DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS PARA EL PERÍODO 2003-2004.
(Continuación)

NÚMERO	CLAVE	ORIGEN	PERIODO
11	KEO-20	México	Junio-2003
12	LEA-01	Venezuela	Mayo-2003
13	LEA-03	Venezuela	Mayo-2003
14	LEOL-02	México	Mayo-2004
15	MES-02	México	Sept-2003
16	NIL-10	Venezuela	Nov-2003
17	OCA-01	México	Oct-2003
18	PARA-07	México	Abril-2003
19	PRO-08	Corea	Abril-2003

Tabla 4.2 Productos farmacéuticos (metodologías analíticas a validar en el periodo 2003-2004)

CAPÍTULO 5

CONCLUSIONES

Y

RECOMENDACIONES

73-A

Al desarrollar una propuesta de un plan maestro de validación para métodos analíticos se tiene un impacto en primera instancia en poder asegurar que el método analítico empleado para el análisis de un producto farmacéutico cumple con el atributo de confiabilidad, por lo que la validación es una forma de emplear el método científico, ya que por medio de estudios experimentales se desarrolla la confiabilidad de un método analítico.

En este esquema de validación para métodos analíticos tiene ventajas sobre los existentes en la literatura, ya que se adecua a las necesidades propias de los departamentos involucrados en la validación de métodos analíticos, puede ser que no sea completamente nuevo pero cumple con los puntos que se necesitan cubrir para la ejecución completa de la validación.

No hay que olvidar que como responsables de la calidad de un producto farmacéutico, en el caso de productos nuevos y/o de importación, el departamento de Desarrollo (formulaciones y analítico) e Investigación, tiene la responsabilidad de asegurar la transferencia de tecnología y poder adecuar dicha metodología en el laboratorio de control de calidad y desarrollo analítico, por lo que el departamento de validación debe de asegurar la confiabilidad del método de análisis. Teniendo claro estos puntos se busca en todo momento poder normar el criterio y poder establecer correctamente los lineamientos para la validación de la metodología analítica.

Como recomendación es necesario que se lleve a cabo una revisión periódica del plan maestro de validación, donde el departamento de Aseguramiento de la calidad, Control de Calidad, Desarrollo y Validación, formando un comité, se reúnan para discutir sobre los posibles cambios en la estructura del plan maestro en caso de requerirlo, ya que sabemos que la regulación normativa caúa vez se vuelve más exigente para poder asegurar la calidad del producto farmacéutico. Por lo que en conjunto es importante el criterio del químico analista que realizó la validación y de todo el equipo que haya participado en la para la toma de decisiones.

BIBLIOGRAFÍA

74-A

1. Taylor, J. K. May 1983 Validation of Analytical Methods. *Analytical Chemistry*, 55(6): 600-605.
2. Green, C. RAC Northwest Regulatory Support. May 2000. A Step-by-Step Approach to Establishing a Method Validation Program. *Journal of Validation Technology*, 6 (3): 622-632.
3. Winslow, P. A., Ph.D & Meyer R. F., Ph.D. Quantitative Technologies, Inc. 1999. Defining a Master Plan for the Validation of Analytical Methods. *Journal of Validation Technology*, 4 (3): 361-366.
4. Brittain, H. G., Ph. D. Acute Therapeutics, Inc. 2000. Validation of Analytical Methodology. *Journal of Validation Technology*, 6(5): 275-280.
5. Johnson, J., D. & Van Buskirk, G. E., 2001. Analytical Method Validation. *Journal of Validation Technology*, 2(2): 88-105.
6. William, B. Maxwell & St. Jean Paul Waters Corporation. 2001. Applying Time Line Approach for the Validation of an HPLC System. *Journal of Validation Technology*, 2(5): 232-234.
7. Code of Federal Regulations 21, parts 211.165 (e) and 211.194 (a) (2).
8. Ransdel, T. E., 1999. The Cost of Validation. *Journal of Validation Technology*, 3(7): 142-143.
9. Swartz M. & Krull Ira S. 1997. Analytical Method Development and Validation. Marcel Dekker, Nueva York, pp. 3-92.

10. Guía de Validación de Métodos Analíticos, editada por el Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos México, A.C., Ed. 2002. pp. 7-123.
11. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. 7ª. Ed. México (2000).
12. Métodos Analíticos, Validación. Guías Generales de Validación de la DGCIS, SSA (1989).
13. Norma Oficial Mexicana NOM-059-SSA1-1993, Buenas prácticas de fabricación para establecimientos de la industria química farmacéutica dedicados a la fabricación de medicamentos.
14. Norma Oficial Mexicana NOM-173-SSA1-1993, Estabilidad de medicamentos.
15. Norma Oficial Mexicana NOM-164-SSA1-1998, Buenas Prácticas de Fabricación para fármacos.
16. Guideline for Industry Q2A Text on Validation of Analytical Procedures: Methodology. ICH, March, 1995.
17. Guideline for Industry Q2B Validation of Analytical Procedures: Methodology ICH, November, 1996.
18. Guías de Buenas Prácticas de Manufactura para la Fabricación de Farmoquímicos CIPAM 1993.
19. Validation of Compendial Methods USP XXV.

20. Reglamento de Insumos para la Salud, Título 2°. Insumos Diario Oficial, 1998.
21. Federal Register. May 19, 1997 62 (96). Department of Health and Human Services, FDA. ICHA; Guideline on the Validation of Analytical Procedures Methodology; Availability, Notice, pp. 27465.
22. Taylor J. K., USA 1987. Quality Assurance of Chemical Measurements.

APÉNDICE
(ANEXO DE FÓRMULAS)

77A

ANEXO DE FÓRMULAS ¹⁰

1. LINEALIDAD DEL SISTEMA

1) Tabular los resultados con base al siguiente formato:

Concentración de la dilución de la solución madre o stock (x)	Propiedad medida (y)
x1	y11, y12 ..., y1n
x2	y21, y22 ..., y2n
.	.
.	.
.	.
xt	yt1, yt2 ..., ytn

t= número de diluciones.

n= número de replicas (propiedad media) de cada dilución de la solución madre (stock).

Para proceder a los siguientes cálculos, es necesario que el número de replicas por dilución, sean equivalentes.

Cálculos preliminares para coeficiente de correlación y coeficiente de determinación:

$$\Sigma x = n (x1 + x2 + \dots + xt)$$

$$\Sigma y = y11 + y12 + \dots + y1n + y21 + y22 + \dots + y2n + \dots + yt1 + \dots + yt2 + \dots + ytn$$

$$\Sigma x^2 = n (x^21 + x^22 + \dots + x^2t)$$

$$\Sigma y^2 = y^211 + y^212 + \dots + y^21n + y^221 + y^222 + \dots + y^22n + \dots + y^2t1 + \dots + y^2t2 + \dots + y^2tn$$

$$\Sigma xy = x1 (y11 + y12 + \dots + y1n) + x2 (y21 + y22 + \dots + y2n) + \dots + xt (yt1 + yt2 + \dots + ytn)$$

2) Calcular la pendiente:

$$b_1 = \frac{n\Sigma xy - \Sigma x \Sigma y}{n\Sigma x^2 - (\Sigma x)^2}$$

n = Número de mediciones (concentración – resp. analítica)

3) Calcular la ordenada al origen:

$$b_0 = \frac{\Sigma y - b_1 \Sigma x}{n}$$

4) Cálculos finales para coeficiente de correlación y coeficiente de determinación:

* Coeficiente de correlación:

$$r = \left[\frac{[nt(\Sigma xy) - (\Sigma x)(\Sigma y)]^2}{[nt(\Sigma x^2) - (\Sigma x)^2][nt(\Sigma y^2) - (\Sigma y)^2]} \right]^{1/2}$$

* Coeficiente de determinación:

$$r^2 = \frac{[nt(\Sigma xy) - (\Sigma x)(\Sigma y)]^2}{[nt(\Sigma x^2) - (\Sigma x)^2][nt(\Sigma y^2) - (\Sigma y)^2]}$$

5) Cálculos preliminares para la Desviación Estándar Relativa:

5.1 Calcular para cada punto de la linealidad del sistema el siguiente factor:

$$F = \frac{\text{propiedad medida (y)}}{\text{Conc. de la dilución de la solución madre o stock (x)}}$$

$$F11 = \frac{y11}{x1}$$

$$F12 = \frac{y12}{x1}$$

$$F1n = \frac{y1n}{x1}$$

⋮

$$Ft1 = \frac{y11}{X1}$$

$$Ft2 = \frac{y12}{\dots}$$

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

$$F_{tn} = \frac{y_{tn}}{X_t}$$

5.2 Calcular la suma de factores, la suma de cuadrados de factores y la media del factor:

$$\Sigma F = F_{11} + F_{12} + F_{1n} + \dots + F_{t1} + F_{t2} + F_{tn}$$

$$\Sigma F^2 = F^2_{11} + F^2_{12} + F^2_{1n} + \dots + F^2_{t1} + F^2_{t2} + F^2_{tn}$$

$$\bar{F} = \frac{\Sigma F}{n}$$

donde n = número de puntos de la linealidad del sistema.

5) Cálculos finales para la Desviación Estándar Relativa:

$$DE = \left[\frac{n(\Sigma F^3) - (\Sigma F)^2}{n(n-1)} \right]^{1/2}$$

$$D.E.R. = \frac{DE}{\bar{F}} \times 100$$

2. PRECISIÓN DEL SISTEMA

1) Tabular los resultados.

$$y_1, y_2, y_3, \dots, y_n$$

2) Cálculos preliminares.

$$\Sigma y = y_1 + y_2 + y_3 + \dots + y_n$$

$$\Sigma y^2 = y^2_1 + y^2_2 + y^2_3 + \dots + y^2_n$$

$$\bar{y} = \frac{\Sigma y}{n}$$

donde n = número de puntos de la linealidad del sistema.



$$DE = \left[\frac{n (\Sigma y^2) - (\Sigma y)^2}{n(n-1)} \right]^{1/2}$$

3) Cálculos finales.

Desviación Estándar Relativa:

$$D.E.R. = \frac{DE}{\bar{y}} \times 100$$

3. LINEALIDAD DEL MÉTODO

A. Cantidad adicionada – Cantidad recuperada

1) Tabular los resultados con base al siguiente formato:

Cantidad adicionada (x)	Cantidad recuperada (y)
x11, x12, ..., x1n	y11, y12, ..., y1n
x21, x22, ..., x2n	y21, y22, ..., y2n
.....
xt1, xt2, ..., xtn	yt1, yt2, ..., ytn

t = número de cantidades adicionadas.

n = número de replicas (cantidad recuperada) por cada cantidad adicionada.

Para proceder a los siguientes cálculos, es necesario que el número de cantidades recuperadas (replicas) de cada cantidad adicionada, sean equivalentes.

2) Cálculos preliminares:

$$\Sigma x = x11 + x12 + \dots + x1n + x21 + x22 + \dots + x2n + \dots + xt1 + xt2 + \dots + xtn$$

$$\Sigma y = y11 + y12 + \dots + y1n + y21 + y22 + \dots + y2n + \dots + yt1 + yt2 + \dots + ytn$$

$$\Sigma x^2 = x^211 + x^212 + \dots + x^21n + x^221 + x^222 + \dots + x^22n + \dots + x^2t1 + x^2t2 + \dots + x^2tn$$

$$\Sigma y^2 = y^211 + y^212 + \dots + y^21n + y^221 + y^222 + \dots + y^22n + \dots + y^2t1 + y^2t2 + \dots + y^2tn$$

$$\Sigma xy = x11 y11 + x12 y12 + \dots + x1n y1n + x21 y21 + x22 y22 + \dots + x2n y2n + \dots + xt1 yt1 + xt2 yt2 + \dots + xtn ytn$$

3) Cálculos finales:

$$b_1 = \frac{nt (\Sigma xy) - (\Sigma x) (\Sigma y)}{nt (\Sigma x^2) - (\Sigma x)^2}$$

$$b_0 = \frac{\Sigma y - b_1 (\Sigma x)}{nt}$$

$$r^2 = \frac{[nt (\Sigma xy) - (\Sigma x) (\Sigma y)]^2}{[nt (\Sigma x^2) - (\Sigma x)^2] [nt (\Sigma y^2) - (\Sigma y)^2]}$$

B. Porcentaje recuperado.

Calcular el porcentaje recuperado (R) para cada cantidad recuperada, con la siguiente ecuación:

$$R = (y / x) 100$$

1) Tabular los resultados:

$$R_1, R_2, R_3, \dots, R_n$$

2) Cálculos preliminares:

$$\Sigma R = R_1, R_2, R_3, \dots, R_n$$

$$\Sigma R^2 = R^2_1, R^2_2, R^2_3, \dots, R^2_n$$

$$\bar{R} = \frac{(\Sigma R)}{n} \quad \text{donde } n = \text{número de puntos de la linealidad del sistema.}$$

$$DE = \left[\frac{n (\Sigma R^2) - (\Sigma R)^2}{n(n-1)} \right]^{1/2}$$

Cálculos finales.

Desviación Estándar Relativa:

$$\text{D.E.R.} = \frac{\text{DE}}{\bar{R}} \times 100$$

4. EXACTITUD Y REPETIBILIDAD AL 100%

1) Tabular los resultados del porciento recuperado (R), con base al siguiente formato:

R1, R2, R3, . . . , Rn

2) Cálculos preliminares:

$$\Sigma R = R_1, R_2, R_3, \dots, R_n$$

$$\Sigma R^2 = R^2_1, R^2_2, R^2_3, \dots, R^2_n$$

$$\bar{R} = \frac{(\Sigma R)}{n} \quad \text{donde } n = \text{número de puntos de la linealidad del sistema.}$$

$$\text{DE} = \left[\frac{n (\Sigma R^2) - (\Sigma R)^2}{n(n-1)} \right]^{1/2}$$

3) Cálculos finales.

Desviación Estándar Relativa:

$$\text{D.E.R.} = \frac{\text{DE}}{\bar{R}} \times 100$$

5. PRECISIÓN (REPRODUCIBILIDAD)

El siguiente procedimiento únicamente es aplicable cuando se utilicen 2 días, 2 analistas y 3 determinaciones.

Cuando se utilicen un número distinto de días y/o analistas y/o recobros por analistas y día, se sugiere que se consulte a un estadístico.

1) Tabular los resultados con base en el siguiente formato:

ANALISTA			
		1	2
DÍA	1	Y111	Y211
		Y112	Y212
		Y113	Y213
	2	Y121	Y221
		Y122	Y222
		Y123	Y223

2) Cálculos preliminares:

$$y... = y111 + y112 + y113 + y121 + y122 + y123 + y211 + y212 + y213 + y221 + y222 + y223$$

$$\Sigma y^2... = y^2111 + y^2112 + y^2113 + y^2121 + y^2122 + y^2123 + y^2211 + y^2212 + y^2213 + y^2221 + y^2222 + y^2223$$

$$\bar{y} = y... / n$$

$$DE = \left[\frac{n (\Sigma y^2) - (y...)^2}{n(n-1)} \right]^{1/2}$$

Donde n = número total de determinaciones (en este caso específico n = 12)

3) Cálculos finales:

Desviación Estándar Relativa:

$$D.E.R. = \frac{DE}{\bar{R}} \times 100$$



6. ESTABILIDAD DE LA MUESTRA ANALÍTICA

1) Tabular los resultados con base al siguiente formato y calcular los resultados indicados:

CONDICIÓN / TIEMPO			
INICIAL	1	2	m
Y1	Y4	Y7	Yn-2
Y2	Y5	Y8	Yn-1
Y3	Y6	Y9	Yn

2) Cálculos preliminares para el intervalo de confianza:

$$\text{MEDIA} \quad \bar{Y}_0 \quad \bar{1} \quad \bar{Y}_2 \quad \bar{Y}_m$$

$$\text{VARIANZA} \quad S^2_0 \quad S^2_1 \quad S^2_2 \quad S^2_m$$

Varianza ponderada:

$$SP^2_1 = \frac{2S^2_0 + 2S^2_1}{2(c+1)}$$

$$SP^2_2 = \frac{2S^2_0 + 2S^2_2}{2(c+1)}$$

donde c = número de comparaciones.

$$SP^2_m = \frac{2S^2_0 + 2S^2_m}{2(c+1)}$$

3) Cálculos finales para el intervalo de confianza:

Para cada condición x tiempo:

$$IC = (\bar{Y}_i - \bar{Y}_0) \pm t^* \times \sqrt{Sp^2_i [2/3]}$$



Donde:

t^* = valor de la t de Dunnet con c comparaciones y $2(c + 1)$ grados de libertad y una probabilidad acumulada de 0.975.

4) Cálculos preliminares para el coeficiente de variación:

Para cada condición/tiempo/muestra calcular el factor (I) con la siguiente fórmula:

$$I = \frac{(\text{análisis muestra} / \text{condición} / \text{tiempo})}{(\text{análisis inicial } i)} \times 100$$

$$I_1 = \frac{Y_4}{Y_1} \times 100$$

$$I_2 = \frac{Y_5}{Y_2} \times 100$$

$$I_3 = \frac{Y_6}{Y_3} \times 100$$

$$I_4 = \frac{Y_7}{Y_4} \times 100$$

$$I_5 = \frac{Y_8}{Y_5} \times 100$$

$$I_6 = \frac{Y_9}{Y_6} \times 100$$

$$I_7 = \frac{Y_{n-2}}{Y_1} \times 100$$

$$I_8 = \frac{Y_{n-1}}{Y_2} \times 100$$

$$I_9 = \frac{Y_n}{Y_3} \times 100$$

Para cada condición/tiempo calcular la media del factor (I) con la siguiente fórmula:

$$I = \frac{\Sigma(\text{condición} / \text{tiempo})}{n}$$

donde:

n = número de muestras por cada condición / tiempo.

$$I_1 = \frac{I_1 + I_2 + I_3}{3}$$

$$I_2 = \frac{I_4 + I_5 + I_6}{3}$$

$$I_3 = \frac{I_7 + I_8 + I_9}{3}$$

La media del factor (I) para cada condición / tiempo deberá cumplir con los siguientes criterios:

MÉTODO

VALOR DE \bar{I}

Cromatográficos	98 - 102 %
Volumétricos (Titolométricos)	98 - 102 %
Químicos y espectrofotométricos	97 - 103 %
Microbiológicos	95 - 105 %