 LABIOFAM Grupo Empresarial Empresa de Productos Inyectables	PROCEDIMIENTO ESPECIFICO	PE 2-05-14
	VALIDACIÓN DE TÉCNICAS DE ANÁLISIS	Revisión:01
		Página 1 de 10

1. Objetivo.

1.1 Establecer la metodología para la validación de las técnicas de análisis.

2. Alcance.

2.1 Al laboratorio de control físico químico de la UEB Productos Farmacéuticos e Inyectables.

3. Referencias.

3.1 Regulación No.41-2013. Validación de métodos analíticos.

3.2 Regulación No.16-2012. Directrices sobre buenas prácticas de fabricación de productos farmacéuticos.

4. Términos y Definiciones:

4.1. **Validación de procedimientos analíticos:** Es el proceso que establece, mediante estudios en laboratorio que las características de desempeño del procedimiento cumplen los requisitos para las aplicaciones analíticas previstas.

4.2 **Revalidación:** Repetición total o parcial de una validación debido a cambios efectuados que pueden afectar la bondad del método.

4.3 **Evaluación del desempeño:** Establecimiento de confianza a través de la realización de comprobaciones de que un producto terminado producido por un proceso específico reúne todo los requerimientos de funcionalidad y seguridad para su liberación.

4.4 **Analito:** Componente de una magnitud medible. Sustancia de la muestra ensayada que va a ser determinada.

4.5 **Blanco:** Muestra que contiene alguno o todos los componentes de la muestra, con la excepción del analito de interés. Término permisible: Placebo.


4.6 **Ensayo/prueba:** Determinación de una o más características de una muestra, de acuerdo con un procedimiento o método establecido.

4.7 **Especificidad o Selectividad:** Capacidad del ensayo para identificar o medir el analito en una muestra en presencia de otros componentes previsibles en el producto (impurezas, productos de degradación, otros componentes de la formulación). También se expresa como el desvío o error porcentual entre el valor medido y conocido.

4.8 **Exactitud:** Es el grado de concordancia entre el valor real y el valor medido. Se expresa como el desvío o el error porcentual entre el valor observado (experimental) y el valor verdadero. Término permisible: Veracidad.

4.9 **Linealidad:** Capacidad de una prueba de generar resultados directamente proporcionales a la característica del analito.

	Nombre y Apellidos	Cargo	Firma	Fecha
Aprobado por	Luis E. Vargas López	Director UEB Inyectables		

 LABIOFAM Grupo Empresarial Empresa de Productos Inyectables	PROCEDIMIENTO ESPECIFICO	PE 2-05-14
	VALIDACIÓN DE TÉCNICAS DE ANÁLISIS	Revisión:01
		Página 2 de 10

- 4.10 Precisión:** Es el grado de concordancia de los valores de una serie repetida de ensayos analíticos, efectuados sobre una muestra homogénea. Es la distribución de los valores analíticos alrededor de su media, y se expresa como el coeficiente de variación (CV). Esta puede relacionarse a tres niveles, mediante la repetibilidad, la precisión intermedia y la reproducibilidad.
- 4.11 Material (patrón) de referencia:** Material o sustancia del cual uno o más de sus valores propios son suficientemente homogéneos y están bien establecidos para ser usados para la calibración de un instrumento, la evaluación de un método de medición, o para la asignación de valores a los materiales.
- 4.12 Repetibilidad:** Medida de la precisión de un método llevada a cabo sobre la base de un número suficiente de determinaciones de una mezcla homogénea del producto, en las mismas condiciones, sobre la misma muestra, por un mismo analista, en el mismo laboratorio con los mismos equipos y reactivos; generalmente en un corto intervalo de tiempo, por lo cual evalúa la variabilidad intrínseca del proceso. También se nombra precisión intraensayo.
- 4.13 Precisión intermedia:** Medida de la precisión dentro de un laboratorio cuando se emplea una muestra homogénea y se analiza en condiciones diferentes, es decir analista diferente, días diferentes en equipos diferentes. Se recomienda el uso de un diseño experimental. Refleja las condiciones reales dentro del laboratorio.
- 4.14 Reproducibilidad:** Medida de la precisión de los resultados de un método analítico que se efectúa sobre la misma muestra pero en condiciones diferentes: analistas, laboratorios, equipos, días entre otras, es decir, evalúa la variabilidad debida a un factor intrínseco al método. Es la precisión interlaboratorio que se evalúa en el marco de estudios colaborativos.
- 4.15 Muestra:** Parte o porción finita representativa de materias primas, materiales de envase o de lote que se somete a análisis a los efectos de verificar las características de calidad o su adecuación para el uso.
- 4.16 Plan Maestro de Validación:** Es un documento estratégico que identifica los elementos a ser validados, el enfoque que debe adoptarse para la validación de cada elemento, las responsabilidades de la organización y de la documentación que se produce con el fin de garantizar un examen completo de atención a los aspectos de calidad del producto.


5. Responsabilidades.

5.1 Especialista principal de Control de la Calidad:

- Controlar el cumplimiento de lo establecido en este procedimiento.
- Aprobar el proceso de validación realizado por los especialistas y técnicos del laboratorio.

5.2 Especialista en Producto Terminado.

- Supervisar y realizar el proceso de validación de técnicas de análisis.
- Revisar el registro de trabajo y el registro de análisis.

 LABIOFAM Grupo Empresarial Empresa de Productos Inyectables	PROCEDIMIENTO ESPECIFICO	PE 2-05-14
	VALIDACIÓN DE TÉCNICAS DE ANÁLISIS	Revisión:01
		Página 3 de 10

5.3 Técnico en ensayo químico-físico y mecánicos.

- Realizar la validación de técnicas de análisis.
- Confeccionar y llenar los registros correspondientes.

6. Desarrollo:

Para realizar la validación de un método analítico, es necesario tener en cuenta lo siguiente:

- Los métodos normalizados y estandarizados no requieren validación sino una evaluación de su desempeño.
- Los métodos modificados requieren validación, su extensión dependerá de la naturaleza del cambio introducido.

Los métodos desarrollados en el laboratorio requieren validación exhaustiva.

Es necesario garantizar:

- La calidad de los reactivos utilizados en los estudios, el control sobre la preparación de las soluciones de ensayo (incluyendo el agua utilizada),
- La identificación inequívoca de las mismas y su conservación,
- El empleo de materiales de referencia adecuadamente caracterizados, bien sean primarios o secundarios.
- La calibración y/o verificación de aquellos equipos que lo requieran antes de comenzar el estudio de validación.
- La calificación y entrenamiento requeridos del personal que ejecuta la validación e interpreta los resultados obtenidos.


6.1 Evaluación de los parámetros.

Exactitud:

La determinación de la exactitud deberá realizarse por estudios de adición y recuperación de cantidades conocidas de muestras de referencia o patrones a excipientes a fin de comparar el valor medido experimentalmente (observado) con el valor real (esperado).

Para la cuantificación de Producto Terminado (PT).

- Mezcla de excipientes de la formulación del P.T. (Blanco), al que se adicionan cantidades conocidas del Ingrediente farmacéutico activo (IFA).
- Cuando no se dispone de todos los excipientes de la formulación, es aceptable adicionar cantidades conocidas de analito puro (Material de referencia) al P.T. y comparar los resultados con un segundo método bien caracterizado con exactitud probada y definida.

 LABIOFAM Grupo Empresarial Empresa de Productos Inyectables	PROCEDIMIENTO ESPECIFICO	PE 2-05-14
	VALIDACIÓN DE TÉCNICAS DE ANÁLISIS	Revisión:01
		Página 4 de 10

Se recomienda realizar al menos 9 determinaciones en 3 concentraciones cubriendo el intervalo especificado (Ej.: 3 concentraciones /3 réplicas de cada una) en condiciones de repetibilidad. Además debe calcularse el porcentaje de recuperación de la cantidad valorada con respecto a la cantidad conocida de analito añadida a la muestra o como la diferencia entre la media de la valoración y el valor verdadero considerando los intervalos de confianza.

La evaluación de la exactitud se puede realizar calculando el porcentaje de recuperación en todo el intervalo de la valoración o evaluando la linealidad de la relación entre las concentraciones estimadas y las reales.

El criterio estadístico más utilizado es que el intervalo de confianza para la pendiente esté comprendido dentro de un intervalo alrededor de 1.0, o alternativamente, que el valor de la pendiente esté cercano a 1.0.

El criterio de aceptación dependerá de la valoración, de su variabilidad y del producto.


Para que la evaluación de la exactitud se considere satisfactoria, no existirán diferencias significativas entre los valores obtenidos experimentalmente y los valores asignados.

Precisión:

Las muestras utilizadas para evaluar la precisión deben ser muestras reales de producto terminado.

La determinación de la precisión se realizará a 3 niveles, siempre que proceda: intraensayo (repetibilidad), interensayo (precisión intermedia) e interlaboratorios (reproducibilidad).

- a) Evaluación de la repetibilidad: (1) se prepararan muestras de 3 concentraciones diferentes, una inferior, media y superior del intervalo especificado y realizar 3 réplicas de cada una o (2) realizar un mínimo de 6 determinaciones a la concentración del 100 %.
- b) Evaluación de la precisión intermedia: Se implementará un diseño donde se evaluarán 3 concentraciones de una muestra (como mínimo), o realizar 3 réplicas de la concentración al 100 % por triplicado en días diferentes por al menos 2 analistas. Pueden emplearse instrumentos diferentes.
- c) Evaluación de la reproducibilidad: La reproducibilidad es evaluada por medio de ensayos interlaboratorios. Este parámetro no es obligatorio a menos que se quiera estandarizar el procedimiento analítico, por ejemplo, para su inclusión en farmacopeas.

 LABIOFAM Grupo Empresarial Empresa de Productos Inyectables	PROCEDIMIENTO ESPECIFICO	PE 2-05-14
	VALIDACIÓN DE TÉCNICAS DE ANÁLISIS	Revisión:01
		Página 5 de 10

En cada caso se evaluará la media, desviación estándar típica y el coeficiente de variación (CV).

Los resultados de los estudios de precisión se expresarán en términos de CV, el límite debe establecerse en dependencia de la especificación y de la variabilidad de cada método. Según el estado del arte para ensayos físico-químico el CV no debe exceder el 5%. Generalmente se aceptarán variabilidades menores para algunos métodos como los cromatográficos ($\leq 2\%$) y los espectrofotométricos ($\leq 3\%$).

Especificidad:

Las muestras utilizadas para evaluar la especificidad pueden ser muestras blanco, caracterizadas y muestras reales sometidas a condiciones de estrés.

Para evaluarla estará dirigido a los siguientes aspectos:


- **Identidad:** Se demostrará que el método es capaz de identificar el principio activo en presencia de otras sustancias.
- **Pureza:** Se demostrará que el método permite una evaluación cualitativa o cuantitativa de las impurezas específicas.
- **Determinación cuantitativa de un componente (o para ensayos de actividad):** Se asegurará que la señal medida por el método analítico corresponde exclusivamente al analito sin interferencias de excipientes, productos de degradación y/o impurezas.

Para la determinación en producto terminado se seguirán los siguientes diseños por separado o en combinación, en dependencia de las características del método y de las muestras a evaluar.

a) Se prepararán placebos, los cuales se analizarán recién preparados y sometidos a degradación. Ninguno de los componentes deberá dar una señal cuantificable.

b) Se adicionará patrón de analito al placebo y se comparará la respuesta con respecto al patrón puro de analito. Los resultados deberán ser concordantes.

c) Se adicionará patrón de analito cargado con impurezas y productos de degradación al placebo y se comparará contra el patrón puro de analito por el método en cuestión y por uno complementario de igual o mayor especificidad. En

 LABIOFAM Grupo Empresarial Empresa de Productos Inyectables	PROCEDIMIENTO ESPECIFICO	PE 2-05-14
	VALIDACIÓN DE TÉCNICAS DE ANÁLISIS	Revisión:01
		Página 6 de 10

su lugar, podrá degradarse una muestra de producto terminado en su envase definitivo y se comparará con el patrón de analito puro.

d) Para los ensayos de identificación se puede tratar la solución del placebo con el reactivo que se utiliza para provocar la reacción química y demostrar que no existe interferencia o reacción del placebo con el reactivo químico.

En el caso que los productos de descomposición sean desconocidos o no puedan aislarse se recomienda evaluar la estructura química de la droga y postular las posibles rutas de degradación y métodos de ataque.

Proceder a la degradación artificial de las siguientes formas:

- Termólisis: Colocar el analito o principio activo, placebos y muestras en un horno a temperaturas entre 70-120 °C o a 20 °C por debajo del punto de fusión del principio activo.
- Hidrólisis: Por calentamiento a reflujo con agua.
- Hidrólisis alcalina: Por calentamiento a reflujo con Hidróxido de sodio 1 N durante una hora.
- Hidrólisis ácida: Por calentamiento a reflujo con Ácido clorhídrico 1N durante una hora.
- Fotólisis: Someter el analito a degradación en una solución de la misma a la luz UV de onda corta y a la luz solar directa o indirectamente.
- Oxidación: Por calentamiento en baño de maria de una solución del analito con gotas de Peróxido de hidrógeno.


Se recomienda que la degradación del analito no sea mayor del 20 % de la concentración inicial.

Linealidad:

La linealidad debe establecerse en el intervalo del método analítico. Este estudio se efectuará sobre solución patrón de analito que contenga concentraciones crecientes que cubran el intervalo del método.

Se utiliza normalmente un mínimo de 5 concentraciones en los intervalos especificados a continuación:

- Cuantificación del Ingrediente Farmacéutico Activo y Producto Terminado:(80-120) % de la concentración del valor nominal a cuantificar.
- Uniformidad de contenido: (70 - 130) % de la concentración del ensayo.
- Ensayos de disolución: 20 % del rango especificado.
- Determinación de impurezas: desde el nivel reportado hasta el 120 % de la especificación.

 LABIOFAM Grupo Empresarial Empresa de Productos Inyectables	PROCEDIMIENTO ESPECIFICO	PE 2-05-14
	VALIDACIÓN DE TÉCNICAS DE ANÁLISIS	Revisión:01
		Página 7 de 10

Para impurezas conocidas como extraordinariamente potentes o que producen efectos tóxicos farmacológicos inesperados los límites de detección y cuantificación estarán en proporción con el nivel al cual las impurezas deben ser controladas.

Si se realiza el ensayo de cuantificación y pureza al mismo tiempo, se debe utilizar un estándar al 100 % y la linealidad debe cubrir el intervalo reportado para el ensayo de impurezas.

Se evaluarán los datos estadísticamente a fin de verificar la linealidad y proporcionalidad con alguna de las siguientes opciones:

- Significación de la regresión: Se determinará el coeficiente de correlación (debe ser 0.990) y el de determinación (valores superiores a 0.98).
- Verificación de linealidad: Se efectuará por determinación del CV de los factores de respuesta (cociente respuesta / concentración), el cual no será superior al 5%.
- También se evaluará la varianza de la pendiente de la línea de regresión.
- Verificación de proporcionalidad: Los resultados de este ensayo deberán incluir el 0 para el grado de probabilidad definido.

Podrá ser utilizado cualquier otro método siempre que se demuestre estadísticamente la linealidad.

Límite de detección y cuantificación:

La evaluación de ambos parámetros puede efectuarse bajo el mismo diseño y se utilizan muestras blancos.


Relación señal ruido: Se compararán la respuesta del blanco (matriz sin analito) con las muestras que contienen pequeñas cantidades de analito adicionadas al blanco.

Deberá obtenerse el nivel medio de ruido del blanco y se multiplicará por 2 o 3 para el límite de detección o por 6 o 10 para el límite de cuantificación. Posteriormente se compararán estos valores con las respuestas de las series blanco - analito y se hallará la concentración de analito que corresponda al valor de la señal.

6.2 Documentación de la validación

Plan Maestro de Validación

Este documento debe ser revisado anualmente y en el mismo se especificarán los ensayos que requieren validación y/o revalidación. Se especificará en dicho Plan

 LABIOFAM Grupo Empresarial Empresa de Productos Inyectables	PROCEDIMIENTO ESPECIFICO	PE 2-05-14
	VALIDACIÓN DE TÉCNICAS DE ANÁLISIS	Revisión:01
		Página 8 de 10

el período en que tendrá lugar la validación /revalidación y las responsabilidades en este proceso.

El Plan Maestro de Validación contará al menos con la siguiente información:

- a) Objetivo y alcance
- b) Responsabilidades
- c) Características y enfoque de los métodos que se van a validar
- d) Etapas de la validación de los métodos
- e) Selección de los ensayos y criterios de aceptación
- f) Parámetros para los ensayos de adecuación del sistema
- g) Modificación y revalidación de métodos
- h) Verificación de métodos compéndiales y estándar
- i) Transferencia de métodos analíticos
- j) Lista de los procedimientos requeridos
- k) Proceso de documentación, aprobación y archivo
- l) Modelos para la recopilación de los resultados y de los informes de validación

Protocolo de validación


Cada método analítico a validar contará con un Protocolo de Validación, los que contarán al menos con la siguiente información:

- a) Título del estudio de validación.
- b) Niveles de aprobación del protocolo. Responsabilidades.
- c) Objetivo y alcance de la validación. En el alcance definir si es parcial o total. En caso de que se trate de una revalidación, deberá indicarse la causa de la misma.
- d) Categoría a la que pertenece el método y parámetros de validación según sus características.
- e) Relación de materiales, reactivos, patrones, equipos y documentos involucrados en el estudio.

Nota: Especificar códigos, lotes de reactivos y soluciones y en el caso del equipamiento, hacer referencias a los datos de calificación y/o calibración

- f) Muestras utilizadas.
- g) Fundamento teórico del método y la referencia del mismo.
- h) Relación de los parámetros a evaluar durante la validación.
- i) Diseño experimental y criterios de aceptación por parámetro.
- j) Análisis estadístico a ser utilizado para el procesamiento de los resultados.
- k) Planillas, registros o certificados de validación de los resultados obtenidos, cálculos y procesamiento estadístico, desviaciones, etcétera.

Cualquier cambio que se requiera efectuar a un protocolo ya aprobado, deberá estar bien justificado y ser incorporado al protocolo sin desechar la información anterior.

 LABIOFAM Grupo Empresarial Empresa de Productos Inyectables	PROCEDIMIENTO ESPECIFICO	PE 2-05-14
	VALIDACIÓN DE TÉCNICAS DE ANÁLISIS	Revisión:01
		Página 9 de 10

Informe de validación

Se elaborarán los informes técnicos o de validación correspondientes, los cuales deben incluir:

- Identificación del Laboratorio y/o institución a la que pertenece.
- Identificación del Informe Técnico.
- Título del estudio de validación.
- Resultados de las determinaciones de cada parámetro contra las especificaciones, incluyendo datos primarios (esquemas, curvas de calibración, espectros y cromatogramas originales, lecturas de absorbancia, fotos, figuras, etc.).
- Discusión de los resultados y conclusiones.
- Fechas de inicio y conclusión del estudio.

Toda la documentación se archivará adecuadamente mientras se encuentre en uso el método validado.


6.3 Revalidación de métodos analíticos.

Los métodos se revalidarán si existen cambios reales o posibles en su ejecución, de acuerdo a las siguientes recomendaciones.

- Cambios menores en el método: Si el o los cambios son menores sólo se requerirá una validación parcial (validación del cambio), dirigida a demostrar que el cambio no posee impacto en el desempeño del método. Cambios esperados como la sustitución de un lote de material de referencia de trabajo por otro, no implicarán la necesidad de revalidar, sino que se demostrará que el sistema analítico permanece bajo control tras los cambios a través de gráficos de control o herramientas equivalentes.
- Cambios mayores en el método: Se requerirá revalidación exhaustiva (revalidación de todos los parámetros aplicables).
- Igualmente, los métodos analíticos serán revalidados si existen cambios mayores en los procesos de fabricación tanto del ingrediente farmacéutico activo como del producto terminado y si existen cambios en las matrices o rangos de las muestras ensayadas.

Otros tipos de cambio, podrán ser enfrentados según un análisis de riesgo que evalúe su impacto en la validación y de acuerdo con esto se define la necesidad o no de revalidar y su alcance.

En caso de que los resultados de la validación no fueran satisfactorios se deberá comunicar al Especialista principal de Control de la Calidad, el cual analizará detalladamente todo el proceso, ofrecerá modificaciones si las llevase o

 LABIOFAM Grupo Empresarial Empresa de Productos Inyectables	PROCEDIMIENTO ESPECIFICO	PE 2-05-14
	VALIDACIÓN DE TÉCNICAS DE ANÁLISIS	Revisión:01
		Página 10 de 10

repeticiones y en el último de los casos si persistiera algún resultado no conforme entonces no se emitirá validada la técnica.

7. Registros:

7.1 Informe de validación.

7.2 Plan Maestro de Validación.

7.3 Protocolo de validación.