

## GESTIÓN DE LA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS DE CONTROL DE CALIDAD DEL CENTRO DE INMUNOLOGÍA MOLECULAR

### Resumen / Abstract

Este artículo propone un Procedimiento que permite planificar, ejecutar y controlar la validación de los métodos analíticos en el Departamento de Control de Calidad del Centro de Inmunología Molecular, en correspondencia con el ciclo de vida de cada producto y con los requisitos regulatorios aplicables en cada mercado donde se realicen sus ensayos clínicos o su comercialización. Basado en método de expertos, se definieron criterios propios de calificación y validación para las Fases I, II y III de ensayos clínicos de los productos. Este resultado debe tener un impacto sobre el control de la calidad, garantizando un 100% de métodos analíticos validados en la Fase comercial de los productos.

*This article propose a Procedure that allows the correct planning, execution and control of the validation of the analytical methods in the Quality Control Department of the Center for Molecular Immunology. It also binds the development of the method to the overall clinical and non clinical product development and with the regulatory requirements of clinical phases for different market regions. As result and based on expert methods a procedure was designed containing internally established criteria, to be applied to method development along the Phases 1, 2 and 3 of clinical trials. This result should have an impact on QC management goal of having 100% of the methods validated by the marketing phase.*

---

**Frank Ramos Díaz**, Ingeniero Industrial, Especialista de Calidad del Centro de Inmunología Molecular (CIM), Calle 15 esq. 216, Playa, Ciudad de la Habana, Cuba.  
e-mail: frankr@cim.sld.cu

**Lizette Fontanet Tamayo**, Licenciada en Física Nuclear, Doctora en Ciencias Farmacéuticas, Especialista de la Dirección Técnica del Centro de Inmunología Molecular (CIM), Calle 15 esq. 216, Playa, Ciudad de la Habana, Cuba.  
e-mail: lizette@cim.sld.cu

**Mercedes Delgado Fernández**, Ingeniera Industrial, Doctora en Ciencias Técnicas, Decana de la Facultad de Ingeniería Industrial, Instituto Superior Politécnico "José Antonio Echeverría" (Cujae), Calle 114, No. 11901, e/ 119 y 127, Marianao, Ciudad de la Habana, Cuba.  
e-mail: mdlgado@ind.cujae.edu.cu

### Palabras clave / Key words

Validación de métodos analíticos, control de la calidad, análisis de riesgos.

*Validation of the analytical methods, quality control, risks analysis.*

### INTRODUCCIÓN

La industria biotecnológica desde sus inicios ha sido altamente regulada. Las regulaciones abarcan todos los aspectos de la fabricación, lo que incluye el control de calidad a través de los ensayos analíticos, incrementándose el rigor de las regulaciones, fundamentalmente en los países del primer mundo. Tal es el caso de la Conferencia Internacional de Armonización sobre Requerimientos Técnicos de los Medicamentos para uso en humanos (ICH) la cual constituye un proyecto único que agrupa a las autoridades regulatorias y a los expertos de Europa, de los Estados Unidos y de Japón, para discutir los aspectos científicos y técnicos del registro de los productos en esas regiones. Su objetivo es acelerar el desarrollo y el proceso de aprobación de los medicamentos, garantizando además la calidad, la seguridad y la eficacia que los mismos deben poseer [1; 2].

Aunque la industria está altamente regulada, la mayoría de las regulaciones están enfocadas hacia los productos comerciales y existen brechas en las guías disponibles para los productos en las primeras etapas del desarrollo [3].

Una vez que el producto se encuentra en las Fases I o II de los ensayos clínicos, los métodos analíticos deben estar calificados (o verificados en el caso de los métodos de las farmacopeas) y se deben aprobar por la unidad de aseguramiento de calidad. Hasta este momento se utilizan los materiales de referencia inicialmente establecidos desde la etapa de pruebas toxicológicas. Al transitar a la Fase III y posteriormente a la fabricación comercial, deben estar validados los métodos analíticos y establecidos los materiales de referencia comerciales [4; 5; 6].

La validación es un paso fundamental en el desarrollo de los métodos analíticos y uno de los aspectos que está sometido a disímiles niveles de regulación en las diferentes regiones del mundo, pero en esencia todas persiguen el mismo objetivo: que los resultados sean correctos y que los fabricantes de los medicamentos sean capaces de demostrarlo. Al producto final se le exige que sea confiable y para ello los resultados de sus características de calidad son fundamentales.

Por otro lado, la creciente importancia concedida al tiempo de desarrollo de nuevos productos, como factor de ventaja competitiva, sobre todo en los mercados fuertemente regulados, ha motivado que una de las principales preocupaciones de los responsables de gestionar el ciclo de vida de los productos es encontrar una serie de herramientas que ayuden a reducir dicho tiempo [7].

Ambos hechos han conducido a definir como objeto de investigación: la validación de los métodos analíticos físico-químicos que se utilizan en el Departamento de Control de Calidad del Centro de Inmunología Molecular (CIM) para el control de los procesos y la liberación de los productos comerciales. El problema a analizar se sustenta en el hecho de que en el Departamento de Control de Calidad del CIM no existía una herramienta de gestión que permitiese la planificación, la ejecución y el control de la validación de los métodos analíticos, en correspondencia

con el ciclo de vida de cada producto y con los requisitos regulatorios que rigen en cada país o región donde se comercialice o ejecuten ensayos clínicos. Estos aspectos se muestran en este artículo, en el que se parte de un diagnóstico del estado de validación de los métodos analíticos en el Departamento de Control de Calidad, posteriormente se diseña un Procedimiento de Gestión que permita la validación de los métodos analíticos en correspondencia con el ciclo de vida de los productos y en armonía con las actividades rutinarias de control de calidad, y se diseña una herramienta para la planificación anual del trabajo en el Departamento de Control de Calidad.

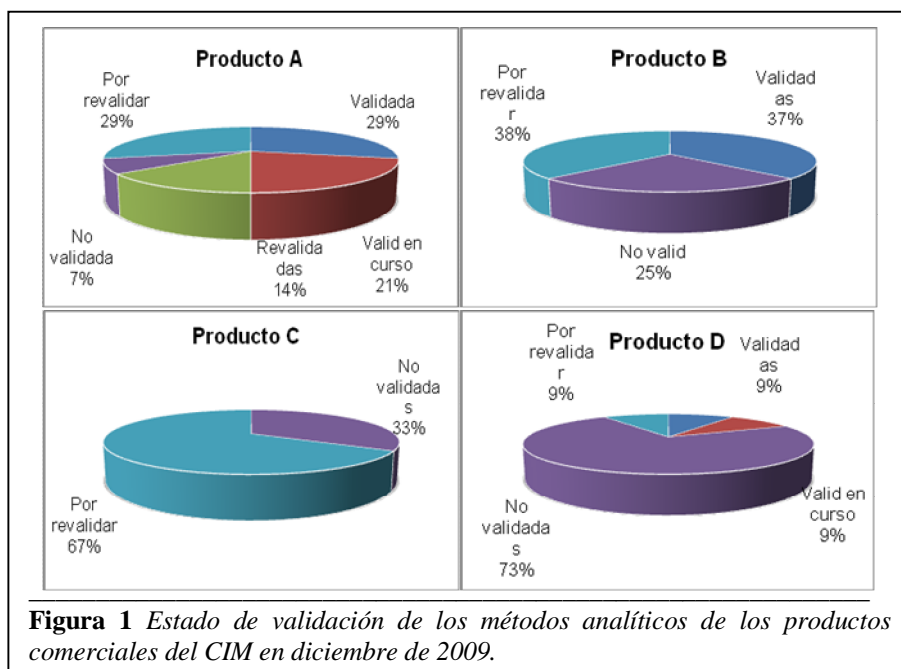
## MATERIALES Y MÉTODOS

Como resultado del diagnóstico realizado en el Departamento de Control de la Calidad del CIM, se pudo conocer que la planificación tenía las debilidades siguientes:

1. No existía una definición de los requisitos de validación a cumplir por los métodos analíticos en las diferentes Fases del ciclo de vida del producto.
2. No existía un programa integral de asignación de recursos humanos, materiales y de tiempo para el desarrollo orgánico de estos métodos.
3. El nivel de validación de los métodos analíticos ocurría de manera aleatoria y no de acuerdo a un programa establecido en el Departamento.

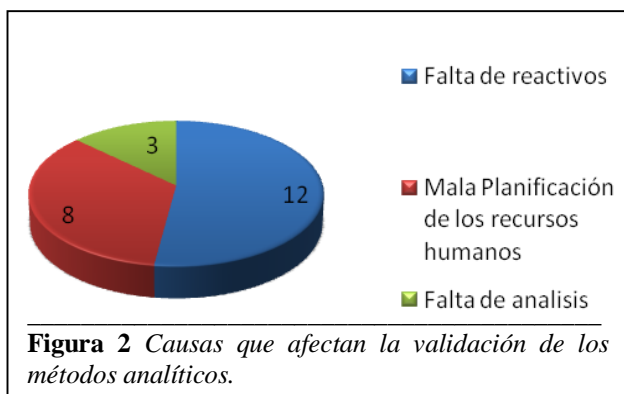
Estas debilidades provocaron atrasos en la validación y la revalidación de los métodos analíticos, la pérdida de oportunidades o demoras para registrar un nuevo producto o la cancelación del registro para un producto comercial. En los países del primer mundo también se vio afectada la aprobación para el inicio de ensayos clínicos Fase III.

Una revisión de todos los métodos analíticos que se realizan en el Departamento de Control a los productos comerciales y su estado de validación en el mes de diciembre del 2009, corrobora la situación antes descrita, la cual se encuentra representada en la Figura 1.



## GESTIÓN DE LA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS DE CONTROL DE CALIDAD DEL CENTRO DE INMUNOLOGÍA MOLECULAR

En la Figura 1 se puede observar que para el caso del Producto A, el 57% de los métodos se encuentran con la validación en curso, por validar o revalidar; para el B, el 63% estaban por validar o revalidar; para el C, el 91% se encuentran con la validación en curso, por validar o revalidar; y en el caso del C, el 100% estaba por validar o revalidar. Las causas principales de estos altos porcentajes de métodos analíticos sin validar se muestran en la Figura 2.



**Figura 2** Causas que afectan la validación de los métodos analíticos.

Se diseñó un procedimiento capaz de gestionar la calificación y la validación de los métodos analíticos en correspondencia con las necesidades que surjan en cada etapa del ciclo de vida de los productos.

Se procedió de forma retrospectiva para aquellos productos ya registrados en Cuba y que están en fase de desarrollo en otros mercados, como el caso de los productos A, B, C y D; y de manera concurrente o prospectiva para los nuevos productos. Se aplicaron diferentes técnicas como entrevistas, análisis de expertos y de riesgo, encuestas, revisión de documentos y protocolos y el Diagrama de Gantt.

Utilizando el método de expertos, se determinaron los parámetros de desempeño a medir en los métodos en función de la Fase en la que se encontrasen. También se definieron las responsabilidades (en la Tabla 1 se muestra un ejemplo para la fase III), los pre-requisitos de validación, el costo y los tiempos de duración de las validaciones de los métodos analíticos.

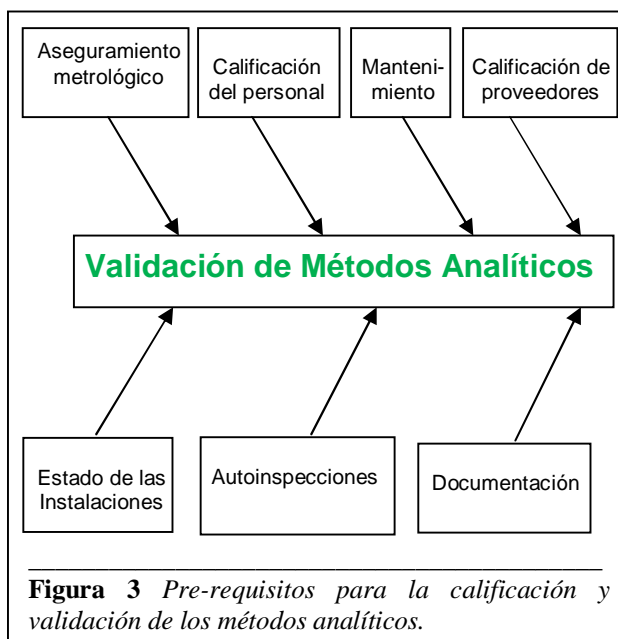
### DISCUSIÓN Y RESULTADOS

El Procedimiento de Gestión se definió a través de un programa que garantizara el desarrollo de los métodos analíticos en correspondencia con la etapa del ciclo de vida del producto y el uso específico del método. El programa se aplicó a los métodos físico-químicos. En este grupo se encuentran las técnicas de HPLC, Electroforesis Capilar, Glicosilación, Intercambio Iónico, Polisorbato 80 y Mapa de Péptidos.

El procedimiento también definió los pre-requisitos a cumplir antes de realizar la calificación o validación de los métodos analíticos [8; 9; 10]. Los mismos se reflejan en la Figura 3.

Se realizó un análisis de riesgo [11] de los pre-requisitos, para que en el caso que se incumpla con alguno de ellos, conocer las implicaciones que pudiera ocasionar y su

Fase III	Responsabilidades
Documentación de los atributos y aprobación	AC de Investigación-Desarrollo (Transferencia a AC de productos Registrados)
Muestreo	Grupo de Bioquímica
Ejecución	
Análisis de resultados	
Supervisión y aprobación	
Estado de equipamiento: Calificado	Ingeniería
Estado de materiales y reactivos:	Liberado por Aseguramiento de la Calidad
Elaboración de Protocolo y comienzo de su ejecución.	Control de Calidad
Comenzar el estudio de estabilidad final 24-36 meses y 6-12 meses para el Ingrediente Farmacéutico Activo.	Control de Calidad
Aprobación de la documentación	Aseguramiento de la Calidad de productos Registrados



**Figura 3** Pre-requisitos para la calificación y validación de los métodos analíticos.

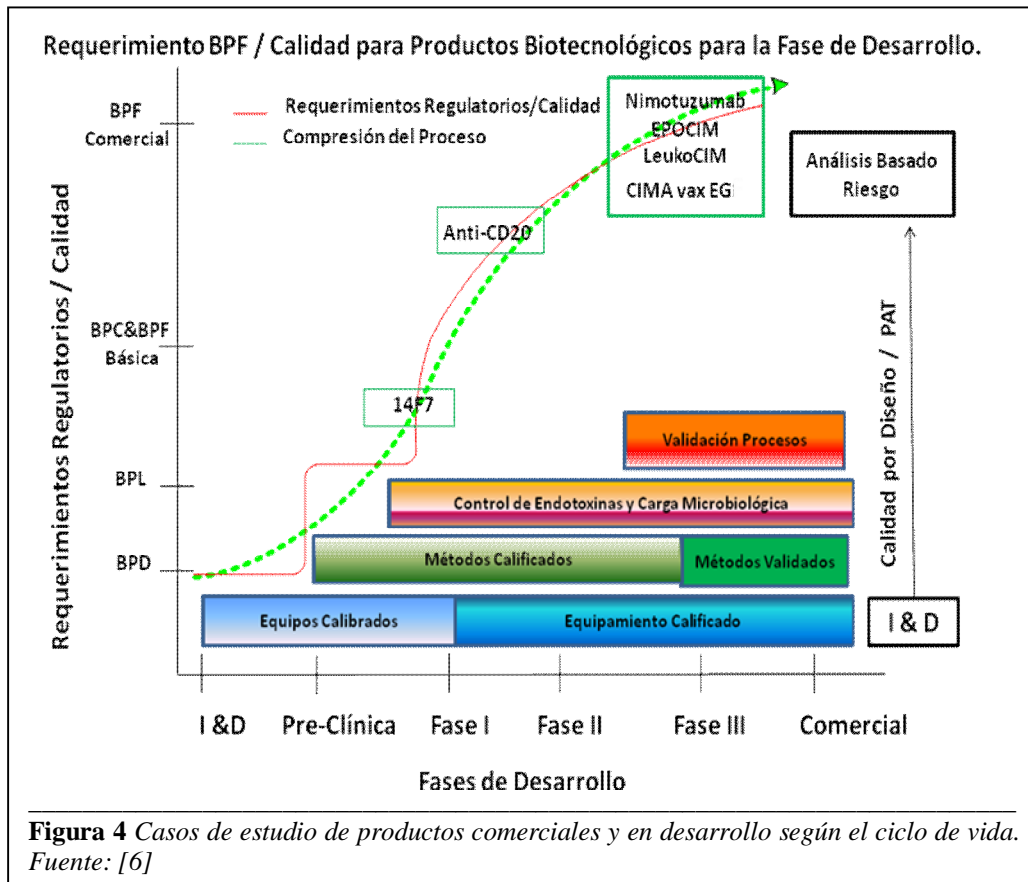
efecto en los resultados de la validación, del que resultó el orden siguiente:

- Aseguramiento Metrológico (Impacto Directo)
- Mantenimiento (No Impacto)
- Calificación del Personal (Impacto Directo)
- Documentación (Alto Impacto)
- Calificación de Proveedores (Impacto Directo)
- Auto-inspecciones (No Impacto)
- Estado de las Instalaciones (No Impacto)

Para este análisis se utilizaron tres expertos, estimándose la severidad, ocurrencia y detección de los modos de fallo de cada pre-requisito.

En la Figura 4 se muestra dónde se ubican en el ciclo de vida los productos comerciales y en la Fase de desarrollo que fueron utilizados como casos de estudio para la

aplicación del Procedimiento de validación de técnicas analíticas.



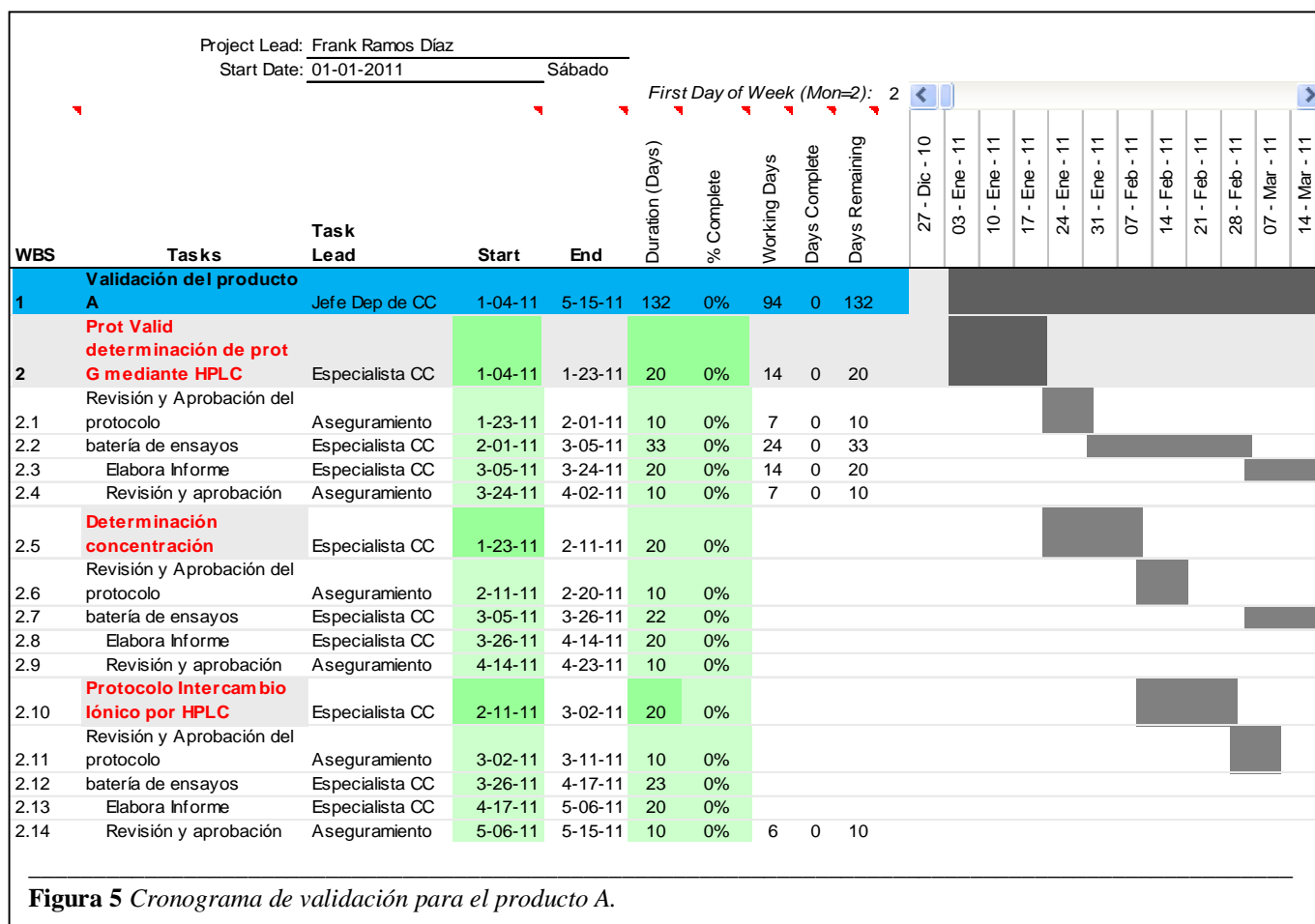
Con ayuda de Microsoft Excel, se diseñaron matrices que sirven como herramienta de planificación para el Jefe del Departamento de Control de calidad, permitiéndole establecer prioridades. La matriz se conforma a partir de análisis de carga/capacidad, de fichas de costo elaboradas por producto, del tiempo de validación de los métodos y los parámetros de desempeño a ser medidos en dependencia de la Fase. La matriz se aplicó para hacer la planificación de la calificación y la validación en el año 2011. Para la validación de los métodos que se utilizarán en el caso de los productos en Fase III, se utilizaron los datos calculados en el análisis de carga y capacidad y de los costos de las validaciones. Para la calificación de los métodos que se emplearán para los productos en las Fases I y II, se estimó que el costo y el tiempo de calificación de los métodos es 1/3 de los de validación. En la Tabla 2 se pone un ejemplo de estas matrices para el caso específico del producto A en la Fase III del desarrollo del producto. A partir de las matrices que se mencionaron anteriormente, se elaboró una propuesta de cronograma para la validación de los métodos analíticos con ayuda del Diagrama de Gantt, el cual se muestra en la Figura 5. Para el logro del cumplimiento de este cronograma, es preciso partir de las premisas siguientes:

1. Se encuentran disponibles los reactivos y materiales descritos en la ficha de costo.

**TABLA 2**  
**Matriz de planificación para la validación de los métodos analíticos caso específico del producto A**

Método	Parámetros de desempeño	Tiempo (días)	Costo (USD)
Punto isoelectrico	Especificidad, Evaluación de variabilidad.	39	\$ 1.929,0
Mapa de Péptidos	Especificidad, Evaluación de variabilidad.	61	\$ 1.343,0
Electroforesis Desnaturalizante (SDS reducido y no reducido)	Limite de cuantificación, Repetibilidad, Especificidad y limite de detección.	46	\$ 4.214,00
Intercambio iónico	Especificidad, Linealidad, Rango.	83	\$ 713,0
Determinación del ADN contaminante	Especificidad, Limite de detección.	90	\$ 3.748,0
Electroforesis en Gel de Poliacrilamida con gel (SDS reducido y no reducido)	Especificidad, Evaluación de variabilidad.	46	\$ 2.350,0
Determinación de la concentración de proteína G por HPLC	Especificidad, Linealidad, Rango, Precisión, Exactitud, Limite de cuantificación, Paralelismo.	93	\$ 654,0
Determinación de la Concentración de Polisolbato 80	Especificidad, Linealidad, Rango, Precisión, Exactitud, Limite de cuantificación, Paralelismo.	83	\$ 1.207,0

## GESTIÓN DE LA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS DE CONTROL DE CALIDAD DEL CENTRO DE INMUNOLOGÍA MOLECULAR



- El Jefe de Control de Calidad balanceará la carga de trabajo de los analistas.
- De los tres HPLC con que cuenta el Laboratorio, uno estará dedicado exclusivamente a la validación de los métodos analíticos.

Por último, se propusieron indicadores para evaluar el funcionamiento del procedimiento de gestión, los cuales se presentan en la Tabla 3.

Control	Forma de cálculo	Valor de referencia	Responsable	Frecuencia
<b>Validación de métodos analíticos</b>	Validaciones <u>terminadas</u> x 100 Validaciones programadas	≥90%	Responsable de Validación	Semestral
<b>Calificación de métodos Analíticos</b>	Calificaciones <u>terminadas</u> x 100 Calificaciones programadas	≥90%	Responsable de Calificación de I+D	Semestral
<b>Tiempo de ejecución de la validación</b>	<u>Tiempo Real</u> x 100 Tiempo Plan	≥95	Responsable de Validación	Anual


La utilización del Procedimiento de Gestión para el proceso de Validación de métodos analíticos, contribuye a una planificación más eficiente de dicho proceso y al aumento de la productividad, por lo que se tendrá la posibilidad de aumentar el número de validaciones al año, lo que traería consigo la obtención de altos beneficios económicos; ya que la falta de gestión de la validación y desarrollo analítico puede poner en riesgo las inspecciones regulatorias de las diferentes agencias de los mercados en los que comercializa los productos biofarmacéuticos el Centro de Inmunología Molecular.

La validación de métodos analíticos propicia el aumento de la confiabilidad de los datos generados por ellos a partir del aumento de técnicas validadas, lo que se traduce en una mayor garantía de la calidad que se ofrece y la mejora de la salud de los pacientes que adquieren estos medicamentos.

### CONCLUSIONES

La falta de un procedimiento de gestión de los servicios analíticos en el Departamento de Control de Calidad del CIM, conllevó a que en el año anterior se detectaran incumplimientos de los requerimientos regulatorios vigentes para la calificación y la validación de los métodos analíticos. Se diseñó un Procedimiento de Gestión que definió criterios propios de calificación y validación, a partir del conocimiento de expertos, para ser aplicados en las Fases I/II y III de los productos en desarrollo respectivamente, con un énfasis en la planificación y la identificación de indicadores de control.

El Procedimiento contribuye a que el Departamento de Control de Calidad llegue a la fase comercial de los productos con los métodos analíticos validados y con ello se cumplan con las regulaciones establecidas, aumentando la probabilidad de éxito en la comercialización en los mercados más exigentes.

Se recomienda la implementación del Procedimiento de validación de técnicas analíticas, lo que propiciará la mejora del mismo y la inclusión de otros conceptos en la planificación anual del trabajo de los trabajadores del laboratorio de control de la calidad que no han sido contemplados, así como otros criterios técnicos que aporten las nuevas técnicas analíticas a desarrollar. 

## REFERENCIAS

1. LAUZÁN, Lemur. En: *Curso de Buenas Prácticas de Documentación* (Centro de Inmunología Molecular: Noviembre, 2004)
2. WALFISH, Steven. "Analytical Methods: A Statistical Perspective". En: *ICH Q2A and Q2B Guidelines for Validation of Analytical Methods*. [s.l.]: [s.n.], 2006.
3. APOSTOL, Izydor. *Managing the Analytical Lifecycle for Biotechnology Products*. [s.l.]: Bioprocess International, 2008.
4. CECMED (Ciudad de la Habana, Cuba). *Regulación Número 26*. Ciudad de la Habana, Cuba: Ed. MINSAP, 2000
5. European Commission. "EU Guidelines to Good Manufacturing Practice. Medicinal Products for Human and Veterinary Use. Part II Basic Requirements for Active Substances used as Starting Materials". En: *EudraLex. The Rules Governing Medicinal Products in the European Union. Volume 4*. 2005.
6. PDA. *PDA Technical Report No. XX. Phase-Appropriate Application of GMPs and Quality Practices to the Development of Biotechnological Bulk Drug Substance. Draft for Global Review*. 2009.
7. MIRANDA, Francisco J. "La gestión del proceso de diseño y desarrollo de productos". En: *Economía de la Empresa*. España: 2000.
8. *Good Manufacturing Practice (GMP) Medicinal Products for Human and Veterinary Use. Part I Chapter 6 Quality Control*. [s.l.]: 2005.
9. FDA. *Part 11 Validation Guidance*. 2001.
10. ICH. "Harmonised Tripartite Guideline: Preclinical safety evaluation of biotechnology – derived pharmaceutical". [en línea]. 1997, Disponible en: <http://www.emea.eu.int/pdfs/human/ich/030295en.pdf>
11. DELGADO, Mercedes, VALLÍN, Antonio et al. "Gestión Integrada Calidad Medioambiente, Seguridad y Salud del Trabajo en la Industria Biofarmacéutica". *Nueva empresa. Revista Cubana de Gestión Empresarial*. Volumen 5(No.1): pp 18-21, 2009. ISSN 1682-2455

