

Criterios de validación en métodos analíticos instrumentales para industria farmacéutica

Rosso, A.; Álvarez, P.

Centro de Investigación y Desarrollo en Química y Petroquímica (CEQUIPE)

OBJETIVOS

La producción de fármacos incluye el uso de muchas técnicas analíticas distintas.

Existe un destacable desarrollo de criterios establecidos para ser usados en validaciones en lo referente a mediciones que utilizan las técnicas cromatográficas.

Sin embargo el desarrollo de un nuevo producto involucra, la mayoría de las veces, el uso de otras técnicas de medición distintas a la citada para cuyos casos se dificulta obtener criterios de referencia.

El objetivo de esta comunicación es presentar algunas consideraciones que pueden ser utilizadas para definir el apto para el propósito en validaciones de métodos analíticos instrumentales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Clasificación de tipos de métodos analíticos para fármacos de la USP 24 (farmacopea de los Estados Unidos)^[1] según:

Ensayos tipo I:

Ensayo para cuantificación de componente mayoritario en productos farmacéuticos terminado.

Ensayos tipo II:

Ensayo para determinación de impurezas y compuestos de degradación en producto farmacéutico terminado. (incluyendo tanto ensayos cuantitativos como ensayo de límite).

Ensayo Tipo III

Ensayos para la determinación de características de performance de un producto farmacéutico.

Ensayos Tipo IV

Ensayos de identificación de producto farmacéutico.

En ella se describen qué parámetros son recomendables validar en función del tipo de ensayo: exactitud, precisión, especificidad, límites de detección y cuantificación, rango y linealidad.

RESULTADOS

Se presentan consideraciones referidas a dos parámetros de validación que frecuentemente llevan a confusiones en métodos analíticos: la precisión y el límite de detección de métodos, al definir su aptitud frente a una validación.

Precisión:

La forma más común de medición en los laboratorios involucra el uso de distintos equipos y distintos analistas para obtener resultados de un mismo método. Por ello la evaluación de la precisión del método es mejor que sea validada en términos de su precisión intermedia, es decir como la reproducibilidad intralaboratorio (distintos analistas, días, equipos, etc.).

Si bien presentará dispersiones mayores (en cada nivel de concentración) que si se valida en términos de repetibilidad, reflejará mejor la capacidad de medida que puede ofrecer el método puesto a punto.

A partir de un grupo importante de ensayos colaborativos organizados por AOAC (*Association of Official Analytical Chemists*) durante varios años Hortwitz^[2] dedujo esta ecuación empírica:

$$CV(\%) = 2^{(1-0.5 \log C)} \quad (1)$$

donde: *C* es la concentración del analito

Esta expresión muestra el aumento del CV (coeficiente de variación) a medida que disminuye la concentración del analito en estudio. Ver Tabla I.

Tabla I.

Máximos coeficientes de variación porcentuales esperables en función de la concentración del analito a medir

% analito	Proporción de del analito	Coefficiente de Variación CV %
100	1	2
10	10^{-1}	2.8
1	10^{-2}	4
0.1	10^{-3}	5.7
0.01	10^{-4}	8
0.001	10^{-5}	11.3
0.0001	10^{-6}	16

Estos valores deben ser tomados en forma orientativa, ya que no todos los métodos pueden ajustarse a ellos y sin embargo no por ello dejar de demostrar aptitud para un propósito definido.

Límite de Detección (métodos cualitativos):

Una aproximación en estos casos es evaluar el nivel de concentración donde se pierde la identificación positiva de una muestra blanco fortificada con el analito a validar.

Se analizan 10 réplicas a cada nivel de concentración decreciente hasta encontrar el intervalo de concentración en que la relación positivos:negativos sea al menos de 1:9 . Otras aproximaciones gráficas pueden ser utilizadas.

Límite de Detección (métodos cuantitativos):

Existen criterios definidos por USP para este parámetro, por ejemplo calcularlo a partir de la relación señal:ruido o a partir de la curva de calibración. En este último caso, se utiliza la pendiente de la curva de calibración y la desviación estándar de un blanco. Sin embargo no siempre este criterio será aplicable en una validación, por ejemplo, cuando el blanco genera una señal significativa. En estos casos es más útil el criterio recomendado por EURACHEM^[3] que establece como límite de detección el promedio de una serie de blancos más 3 veces su desviación estándar.

CONCLUSIONES

Estas consideraciones aquí presentadas pueden ser útiles para definir si los resultados estadísticos resultantes de un proceso de validación satisfacen los requisitos para poder definir a la técnica desarrollada como apta.

Sin embargo la clave de un estudio de validación sigue residiendo en poder definir correcta y objetivamente esos requisitos de aptitud en conjunto con el cliente, que es quién aplica sus procesos y conoce sus especificaciones.

Sin ellos el proceso de validación proveerá datos que no permitirán decidir estadísticamente en que casos el método aplicado es apto y para que casos deja de serlo.

Por último, en los casos en que el cliente no conozca las especificaciones a cumplir, se deberá asesorar al mismo basándose en especificaciones de métodos en matrices similares o en base a la experiencia profesional previa en trabajos similares por parte del equipo de validación.

REFERENCIAS

- [1] USP 24 The United States Pharmacopeia -NF19 The National Formulary, Chapter<1225> Validation of Compendial Methods, Enero 2000. ISBN 1-889788-03-1.
- [2] Hortwitz W. "Evaluation of Analytical Methods used for Regulation of Food and Drugs" Anal. Chem. 54(1):67A. 1982
- [3] EURACHEM Guide "The Fitness for Purpose of Analytical Methods - A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics" First English Edition 1.0, Diciembre 1998. ISBN 0-948926-12-0.

Para mayor información contactarse con:

Alfredo Rosso – alfredo@inti.gov.ar

[Volver a página principal](#) ◀