



VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS

**Buenas Prácticas para Laboratorios
Nacionales de Control Farmacéutico
Anexo 3 informe 36, 2002**

www.who.int/medicines/publications/pharmprep/en



Validación

Objetivos

Introducir los conceptos de :

- **Desarrollo del protocolo**
- **Calificación de instrumento**
- **Procedimiento analítico**
- **Extensión de la validación**
- **Transferencia de métodos**
- **Validación de ensayos químicos, físicos, biológicos y microbiológicos**





¿Qué es validación?

“La validación de un método analítico es el proceso por el cual se establece, mediante estudios de laboratorio, que las características de desempeño del método cumplen con los requisitos para las aplicaciones analíticas previstas.”

***USP 31–NF 26, Capítulo General <1225>
Validación de métodos farmacopéicos***



“La validación de métodos, es el proceso por el cual se demuestra que los procedimientos analíticos son aptos para el uso indicado.”

FDA draft guidance – Analytical Procedures and Methods Validation



¿Cuál es el objetivo de la validación?

“El objetivo de la validación de un procedimiento analítico es demostrar que es apto para el propósito indicado.”

***ICH Guideline Q2A –
Text on Validation of Analytical
Procedures***



ICH Q2(R1)

- ***Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology***
- ***Documento principal (parámetros de validación necesarios, características que deben ser consideradas): etapa 5, Oct 94***
 - **UE: Adoptado por CPMP, publicado como CPMP/ICH/381/95.**
 - **FDA: Registro Federal, volumen 60, N°. 40, 1° de marzo, 1995, páginas 11260-11262**
- ***Addendum (datos experimentales requeridos, interpretación estadística): etapa 5, Nov 1995***
 - **UE: Adoptado por CPMP, publicado como CPMP/ICH/281/95**
 - **FDA: Registro Federal, volumen 62, N°. 96, 19 de mayo, 1997, páginas 27463-27467**

<http://www.ich.org/cache/compo/276-254-1.html>



Características Analíticas típicas en la validación

- Linealidad
- Especificidad
- Limite de Detección
- Límite de cuantificación
- Precisión
- Exactitud

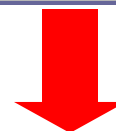


Componentes de calidad de datos analíticos

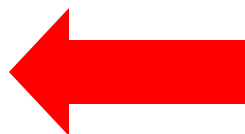
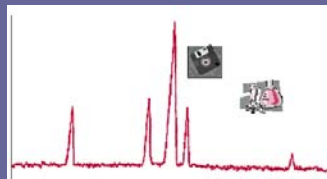
Verificación del CC (calibración, materiales de referencia)



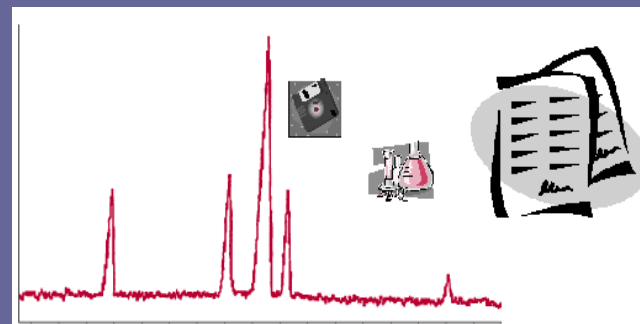
Calificación de los instrumentos analíticos



Pruebas de aptitud del sistema



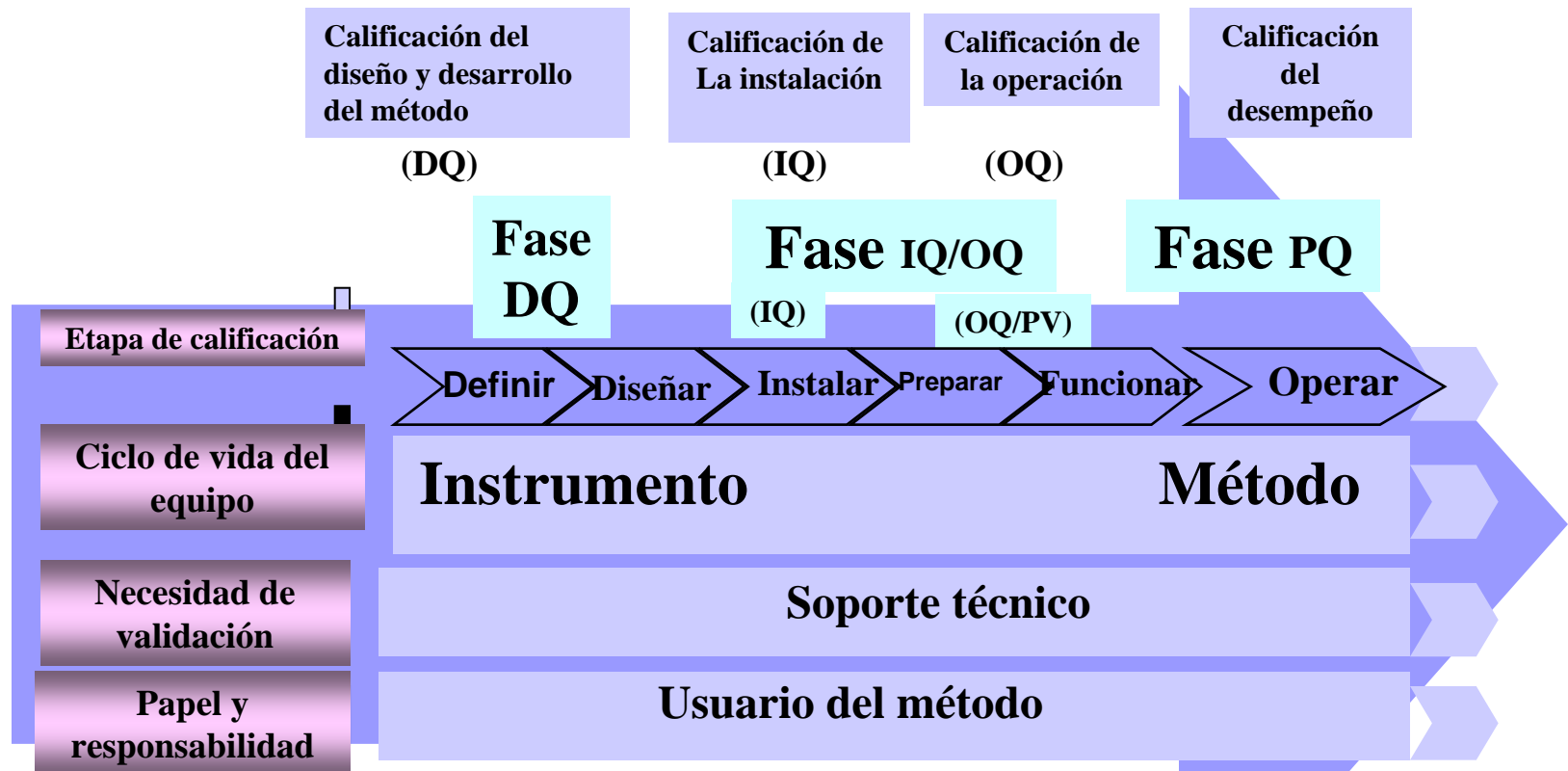
Validación de los métodos analíticos





Componentes del Proceso de validación

Analista, equipo instrumental y método





Validación

- ¿Por qué es necesaria la validación analítica?
- ¿Cuál es el propósito de la validación analítica?



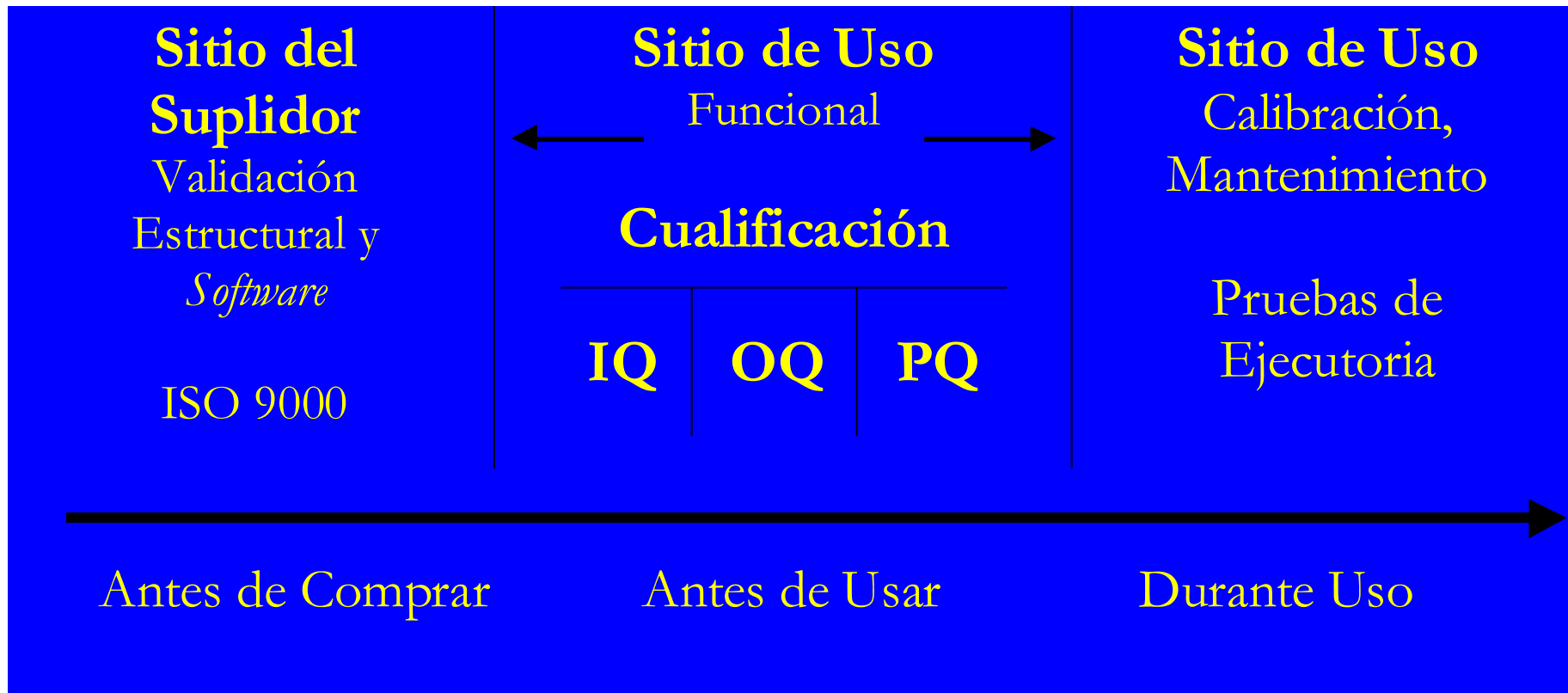
Métodos confiables



Métodos reproducibles



Etapas de Validación





Cuándo Validar ?

**El método analítico debe estar
normalizado
antes de iniciar el proceso
de validación**



Etapas para desarrollar un método analítico

1 **Búsqueda bibliográfica**

2 **DEFINIR LAS CONDICIONES**

El equipo
Los reactivos
El muestreo

3 **ESTANDARIZAR EL METODO**

Encontrar las
condiciones óptimas

4 **VALIDAR**

Práctico : tiempo, recursos
Idóneo: preciso, exacto





Validación de métodos analíticos

La validación de procedimientos analíticos requiere:

- Instrumentos calificados y calibrados
- Métodos documentados
- Patrones de referencia confiables
- Analistas calificados
- Integridad de la muestra



Documentados





Plan maestro de validación debe incluir:

Programas

de

Validación

Calibración



Calificación de Personal



Mantenimiento



Validación de Métodos Analíticos

Calificación de Proveedores



Inspecciones Internas



Monitoreo Microbiológico y Físico-Químico



Buenas Prácticas de Laboratorio





Validación de métodos analíticos

Protocolo de validación para método analítico debe especificar:

- El propósito y el alcance
- Responsabilidades y competencias del equipo de trabajo
- Método de ensayo normalizado y documentado (*los pasos del método no pueden ser modificados durante la validación*)





Protocolos de validación

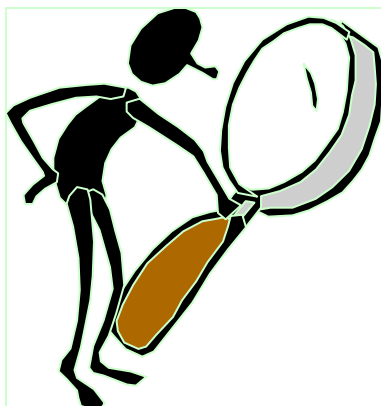
- **Lista de materiales y equipos**
- **Las características de desempeño que se evaluarán (*especificidad, linealidad, etc*) y el Procedimiento para evaluarlas. experimentos para cada parámetro)**
- **Análisis estadístico o fórmulas**
- **Criterio de aceptación para cada parámetro de desempeño (*los criterios de aceptación no pueden ser cambiados para ajustarse a los datos*)**



Validación de métodos analíticos

Calificación del instrumento

- Marca, modelo y manual del fabricante
- Modificaciones
- Calificación de la instalación y de la operación
- Programas de calibración
- Cronogramas de mantenimiento





Diferentes clases de ensayos analíticos

- **Clase A:** Para establecer identidad
- **Clase B:** Para detectar y cuantificar impurezas
- **Clase C:** Para determinar cuantitativamente la concentración
- **Clase D:** Para evaluar las características, disolución, uniformidad de contenido



Clasificación OMS (Inf. 32, Anexo 5 Validación de métodos analíticos)



Parámetros requeridos para la Validación OMS

Característica	A Identificación	B límite cuantitativa	B límite cualitativa	C Cuantitativas producto terminado	D características
Exactitud		X		X	X*
Precisión		X		X	X
Robustez	X	X	X	X	X
Linealidad e intervalo		X		X	X
Especificidad ó selectividad	X	X	X	X	X
Límite de detección	X		X		
Límite de cuantificación		X			

* Se puede permitir un grado de desviación

Categorías A,B,C,D según OMS, La USP las clasifica como categoría I, II, III, IV



Parámetros requeridos para la Validación USP 31

Características de Desempeño analítico	Categoría I de valoración Prod.Termi. Graneles, conservante	Categoría II de valoración		Categoría III de valoración (características de desempeño, disolución)	Categoría IV de valoración (pruebas de identificación)
		Prueba de límite Cuantitativa (impurezas en fármacos)	Prueba de límite Cualitativa (metales pesados, etc.)		
Exactitud	SI	SI	*	*	NO
Precisión	SI	SI	NO	SI	NO
Especificidad	SI	SI	SI	*	SI
Límite de detección	NO	NO	SI	*	NO
Límite de cuantificación	NO	SI	NO	*	NO
Linealidad	SI	SI	NO	*	NO
Intervalo	SI	SI	*	*	NO

* Puede ser requerido dependiendo de la naturaleza de la prueba específica



Extensión de la validación

- **Métodos nuevos requieren validación completa**
- **Métodos de Farmacopea requieren validación parcial (o verificación)**
- **Cambios significativos implican revalidación parcial**
 - cambios de equipo
 - cambios de fórmula
 - cambios de proveedores de reactivos críticos





Transferencia de métodos analíticos

- **Protocolo y procedimiento del método de transferencia**
 - precisión
 - exactitud
 - Robustez
- **Método científico escrito y aprobado**
- **Verificación de la competencia**
- **Aceptación formal por el nuevo laboratorio**





Características generales de desempeño

✓ **Especificidad** (*USP 31*) ó **Selectividad** (*ICH*)

- ✓ **Linealidad**
- ✓ **Intervalo**
- ✓ **Límites de detección**
- ✓ **Límites de cuantificación**

- ✓ **Exactitud**
- ✓ **Precisión**

Reproducibilidad

“Tolerancia, fortaleza o resistencia”. *USP 31*

Robustez

Aptitud del sistema



ESPECIFICIDAD y SELECTIVIDAD

ICH Q2A y USP 31 (United States Pharmacopeia):

- “La capacidad de evaluar en forma inequívoca al analito en presencia de los componentes cuya presencia cabría esperar, tales como impurezas, productos de degradación y componentes de la matriz. La falta de especificidad de un procedimiento analítico individual puede compensarse mediante otros procedimientos analíticos de apoyo”.

La IUPAC, AOAC prefieren el término selectividad



Especificidad y Selectividad

■ Se utiliza en :

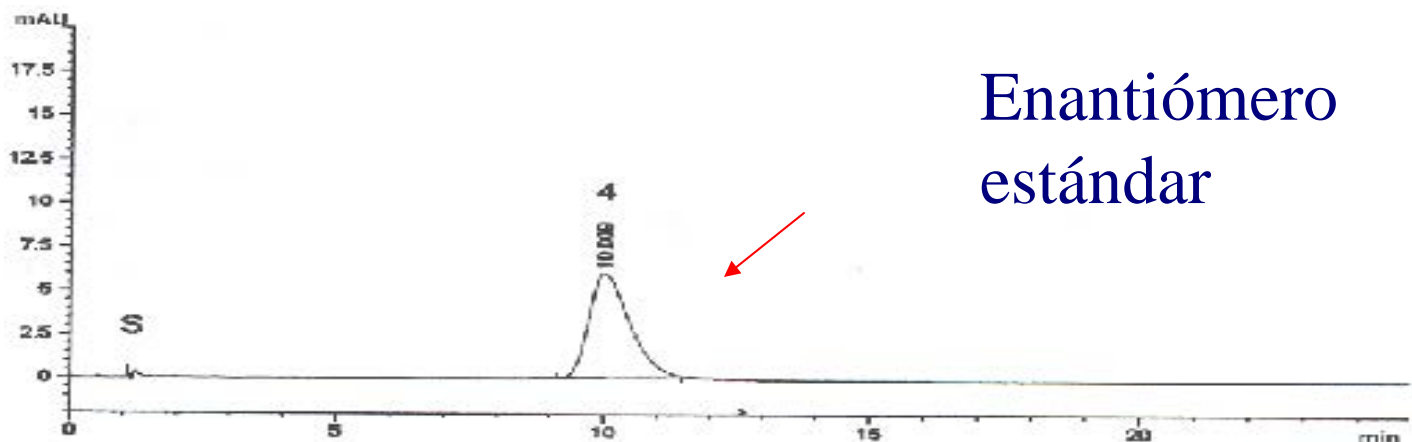
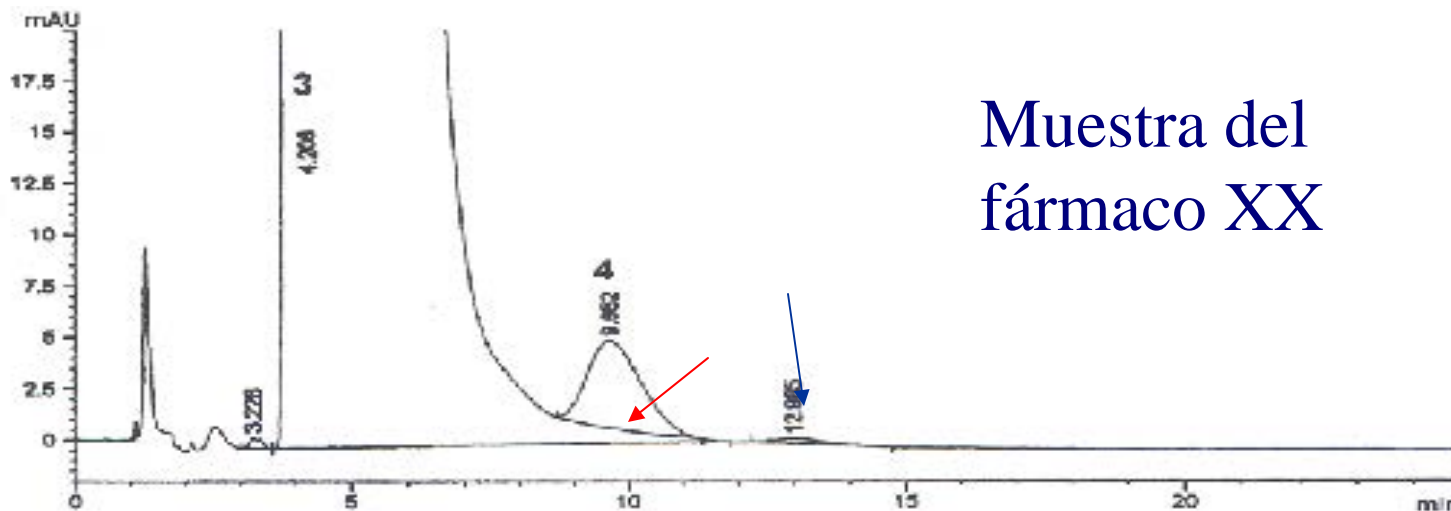
- **Identificación:** garantizar la identidad del analito
- **Pruebas de pureza:** declaración exacta del contenido de impurezas de un analito (sustancias relacionadas, metales pesados, disolventes residuales, etc.)
- **Valoración:** un resultado exacto que permite la declaración exacta del contenido o potencia del analito en la muestra
- **En análisis cualitativos:** Debe tener la capacidad de distinguir compuestos de estructura estrechamente relacionada (productos de degradación)

USP 31



caso 1 Productos relacionados

Especificidad (USP 29) ó Selectividad (ICH)

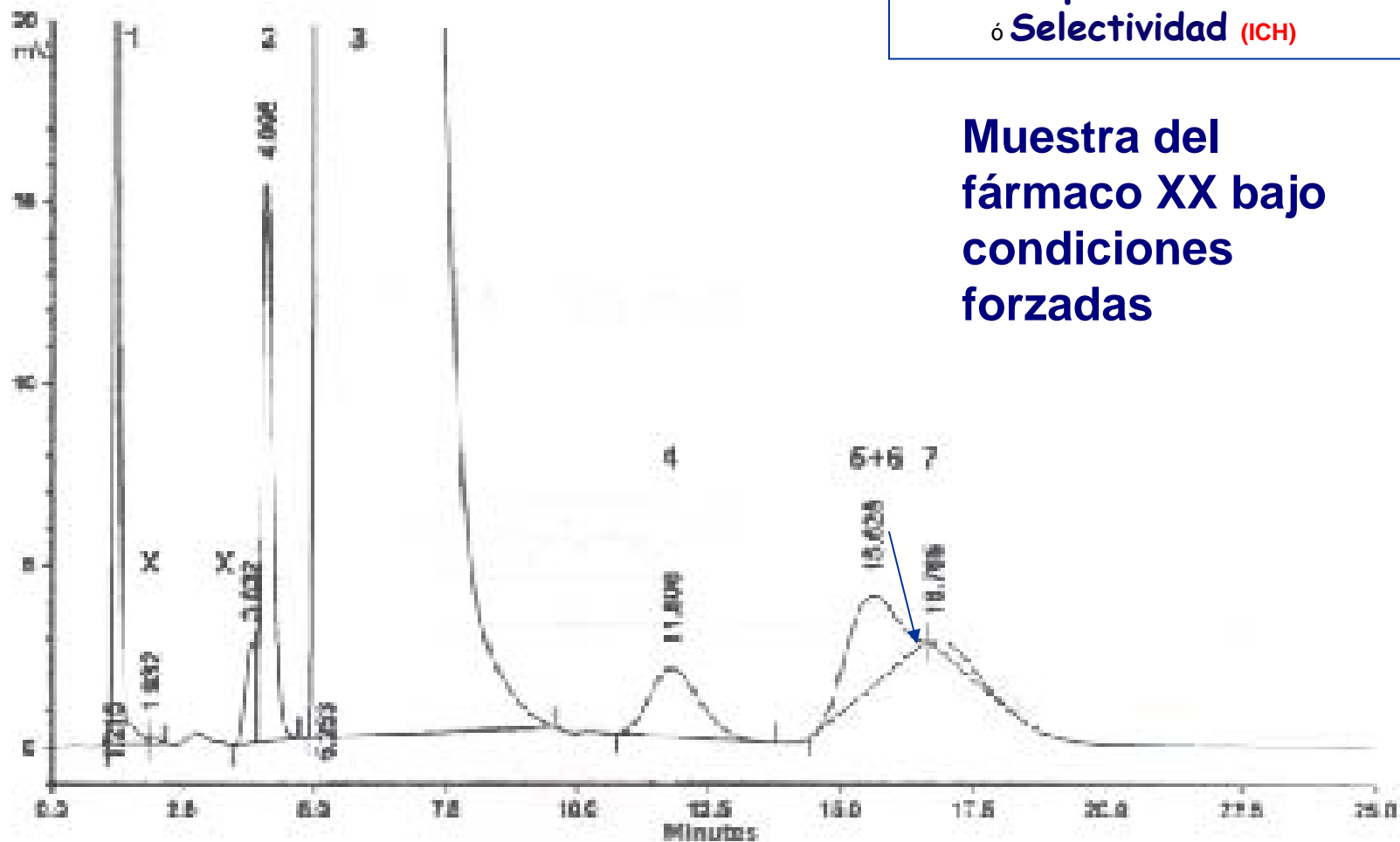




caso 1 Productos de degradación

✓ **Especificidad** (USP 31)
ó **Selectividad** (ICH)

Muestra del fármaco XX bajo condiciones forzadas





En un procedimiento analítico para impurezas, la especificidad se puede establecer:

- Si se dispone de impurezas la especificidad puede establecerse por adición.
 - Se agregan cantidades conocidas (del fármaco o producto farmacéutico) con niveles adecuados de impurezas y/o excipientes
 - Comparación con muestras sin agregado de cantidades conocidas
 - El resultado de la valoración no se ve afectado por la presencia de estos materiales: **“un resultado exacto que permite la declaración exacta del contenido o la potencia del analito en una muestra”**

(Método compendial 1225 USP 31)



Pruebas de valoración y de impurezas

- Si no se dispone de impurezas o de los productos de degradación puede demostrarse la especificidad:
 - Comparando los resultados de las pruebas de muestras que contengan impurezas o productos de degradación con los de un segundo procedimiento bien caracterizado.

(Método compendial 1225 USP 31)

Degradaciones forzadas relevantes



Condiciones Forzadas Relevantes

caso 2

□ Producto farmacéutico

- calor
- luz
- humedad (85%)
- Hidrólisis ácida y alcalina
- Oxidación

En algunos casos, pueden ser válidas otras condiciones

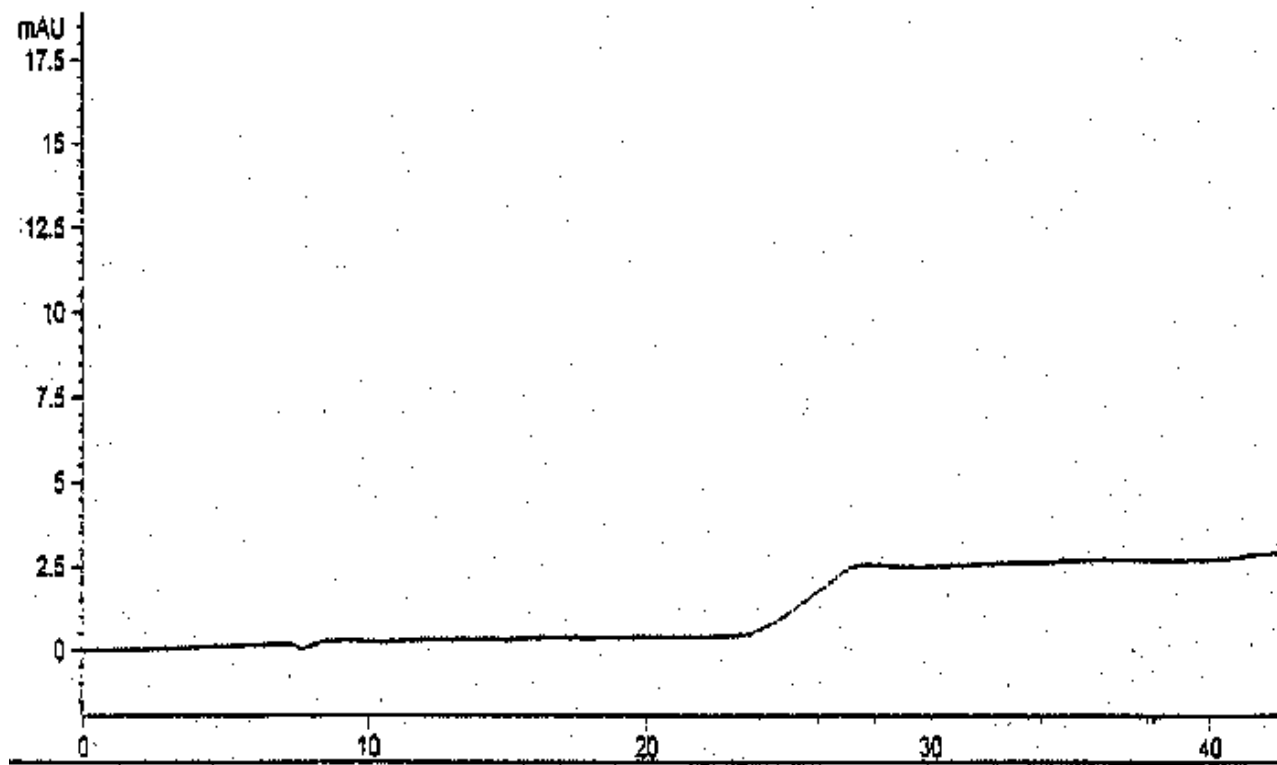
- El tiempo de exposición, la temperatura y la concentración pueden ajustarse para obtener una degradación adecuada de la muestra.

Método compendial 1225 USP 31



caso 2 Cromatograma del diluyente

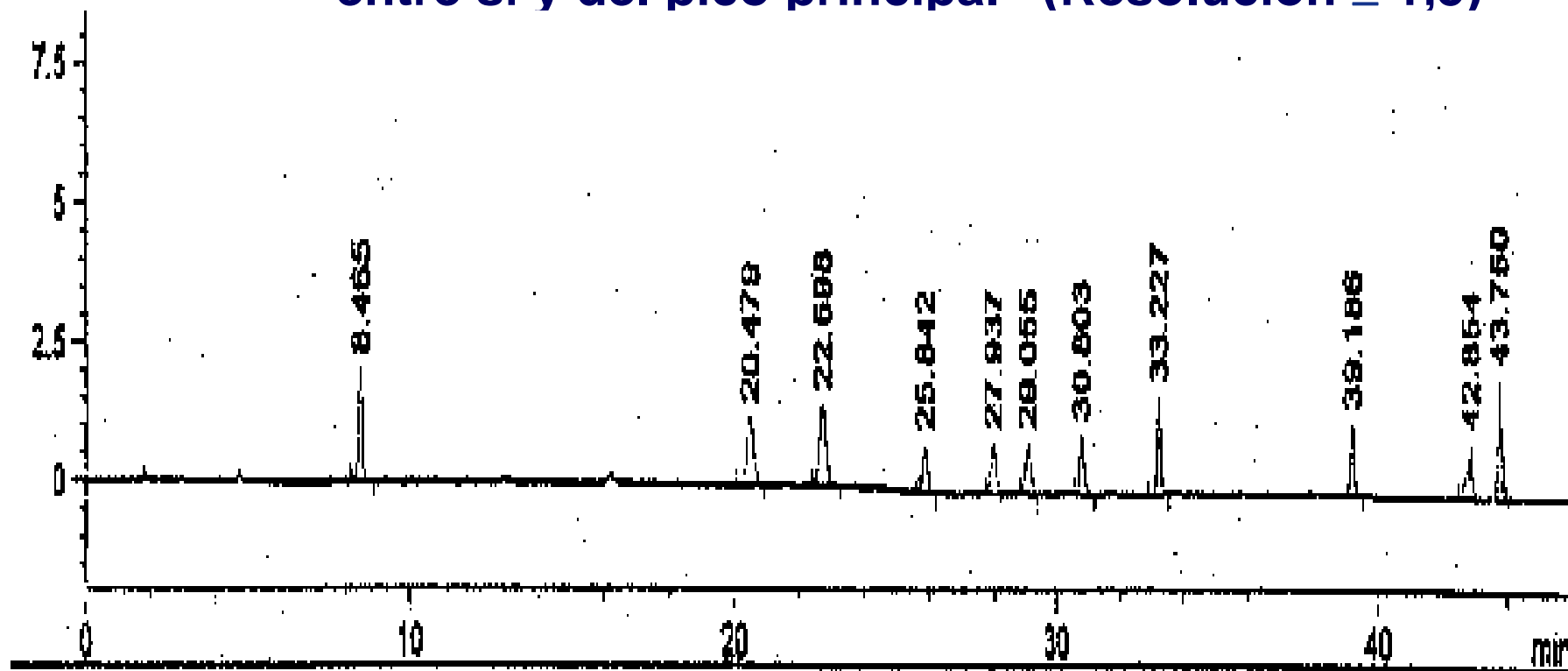
No se observan picos en los tiempos de retención del componente principal y las impurezas.





caso 2 Cromatograma de la solución estándar

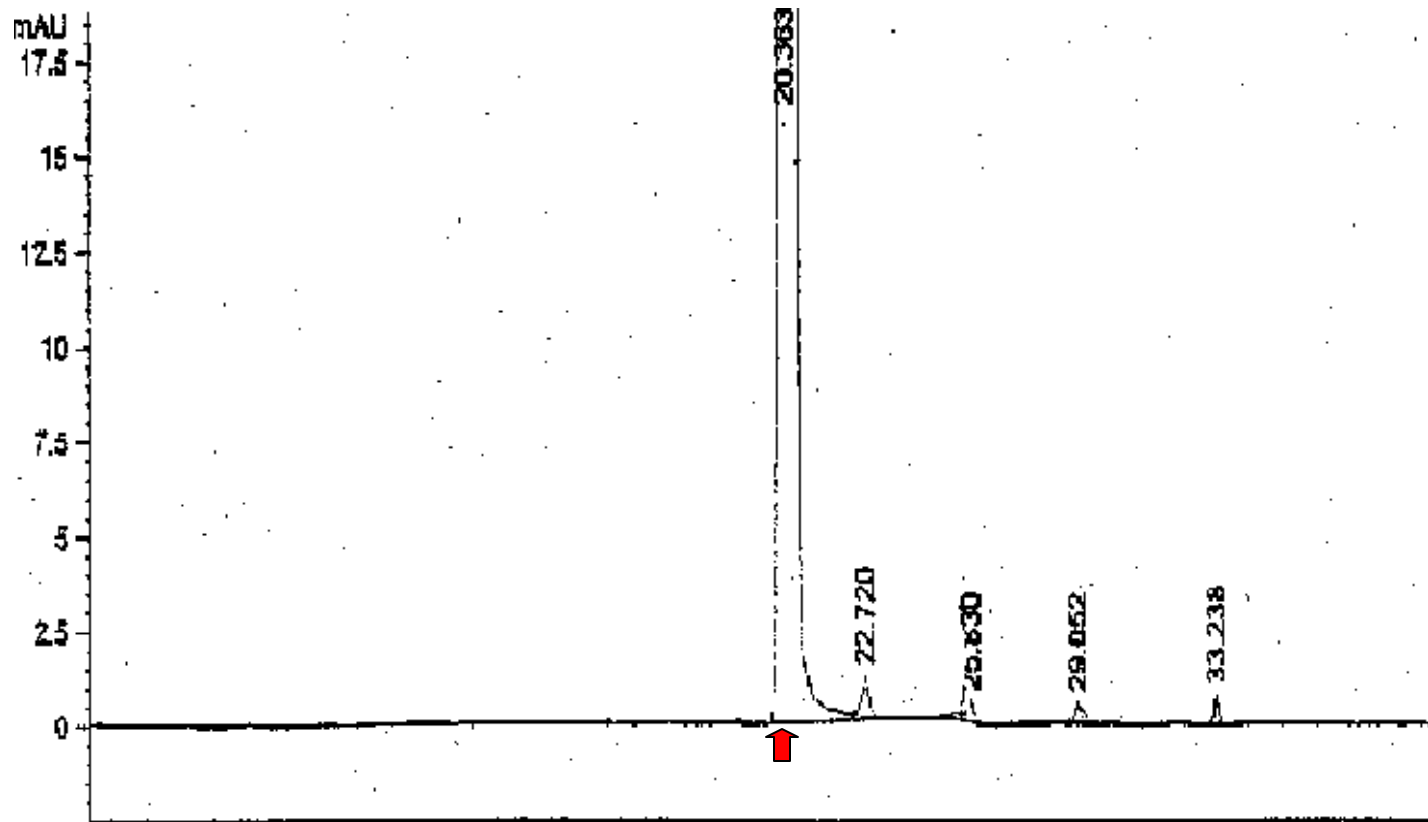
Las impurezas conocidas deben estar separadas entre sí y del pico principal (Resolución $\geq 1,5$)





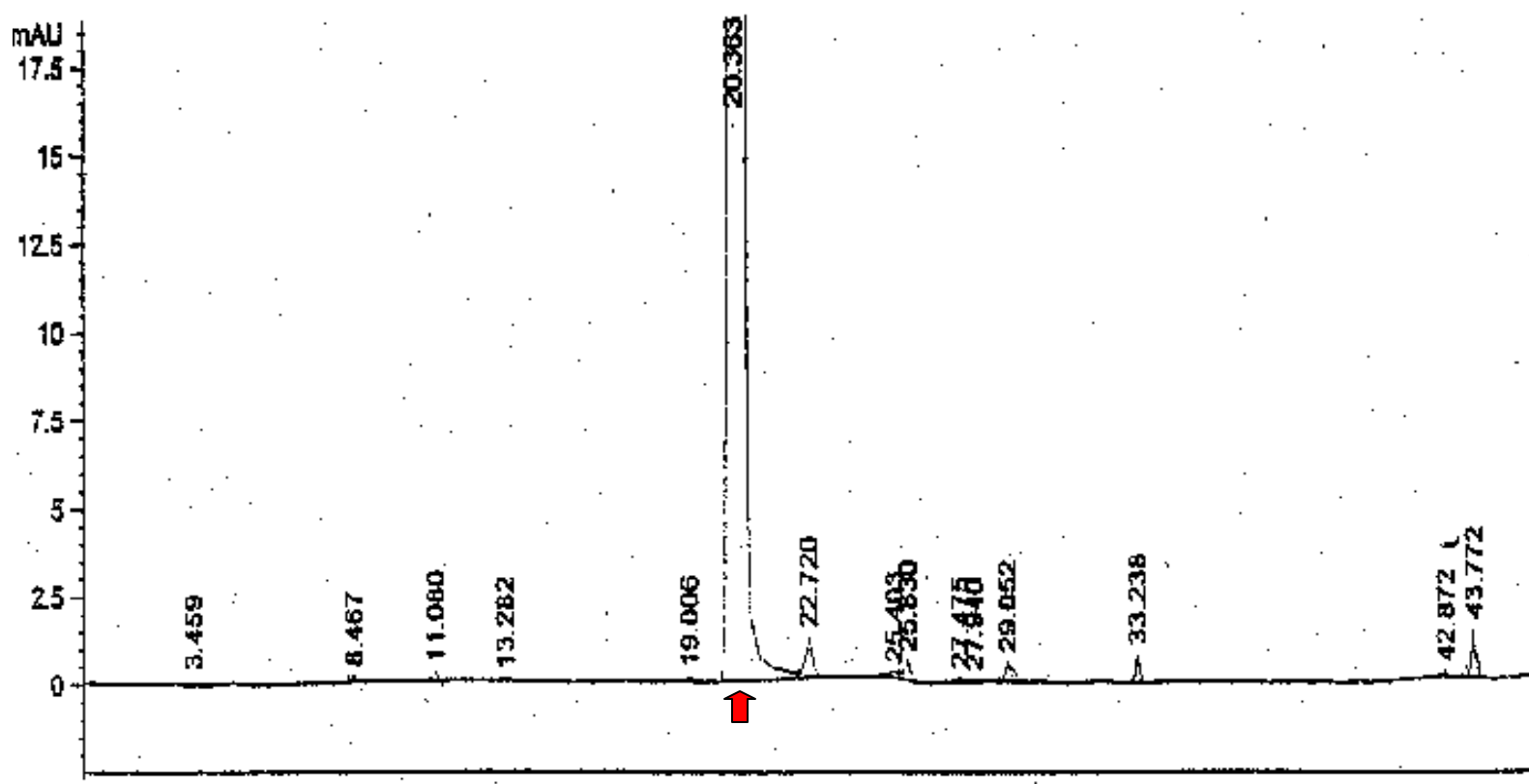
caso 2

Cromatograma de la muestra NO sometida a condiciones forzadas de degradación



caso 2

Cromatograma de la muestra sometida a condiciones forzadas: los productos de degradación están separados del pico principal, $R \geq 1,5$





LdeD, LdeC y RSR

- **Límite de Cuantificación**
- **Límite de Detección**
- **Relación de Señal a Ruido**



LÍMITE DE DETECCIÓN

- **USP 31 <1225>**: “la menor cantidad de analito que puede detectarse en una muestra, aunque no necesariamente cuantificarse, bajo las condiciones del experimento indicadas. Así, las pruebas de límite confirman simplemente que la cantidad de analito se encuentra por encima o por debajo de un cierto nivel.”

La ICH cuando hay ruido de fondo recomienda que el cálculo del LD puede realizarse con un valor con el cual la relación entre señal y ruido (S/R) es 2:1 ó 3:1.



El LD es una característica de las pruebas límite



Determinación del LD: No instrumental

- **Métodos no instrumentales:**
análisis de muestras con concentraciones conocidas de analitos para establecer la concentración mínima a la cual el analito puede ***detectarse de manera confiable.***

Ejemplos: TLC, valoraciones volumétricas, comparaciones de colores



Determinación del LD: instrumental

■ Métodos instrumentales:

igual que para los métodos no instrumentales

análisis de muestras con concentraciones conocidas de analitos para establecer la concentración mínima a la cual el analito puede ***detectarse en forma confiable.***

Cuando hay ruido de fondo la ICH sugiere una relación señal ruido aceptable de 2:1 ó 3:1



Estimación del LD (ICH)

Otro enfoque sugiere la determinación de la pendiente de la curva de calibración y la desviación estándar de las respuestas.

$$LD = 3,3 \sigma / m$$

donde: σ = desviación estándar (“ruido”) de la respuesta

m = pendiente de la curva de calibración para linealidad

El LD puede basarse en cualquiera de los siguientes:

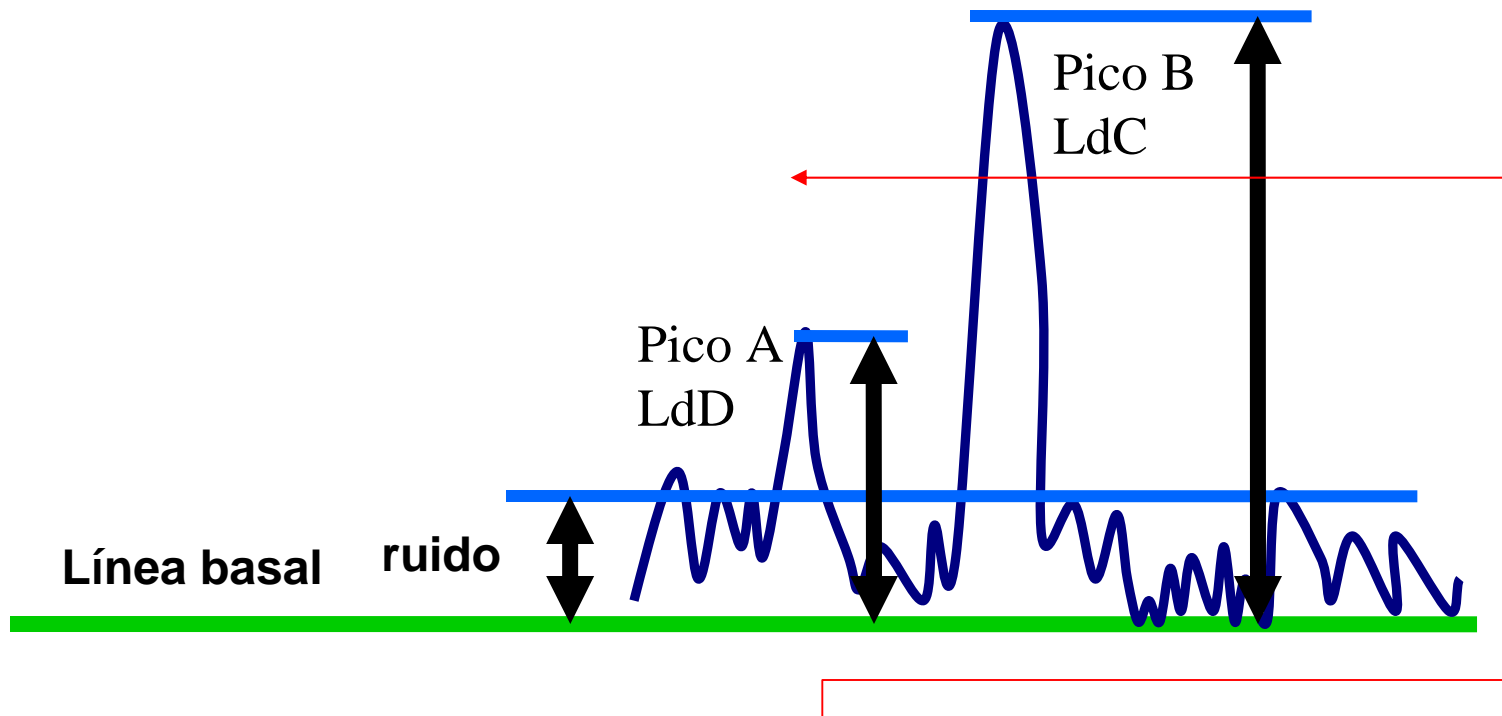
- σ del blanco
- σ del punto de linealidad de nivel más bajo
- el gráfico de calibración (regresión)



Ejemplos de pruebas de límites (validación del LD)

- Pruebas de comparación del color (metales pesados <231>)
- Métodos TLC (impurezas comunes <466>)
- Métodos de precipitación (prueba de plomo en la monografía sobre óxido de zinc)

Relación entre señal y ruido



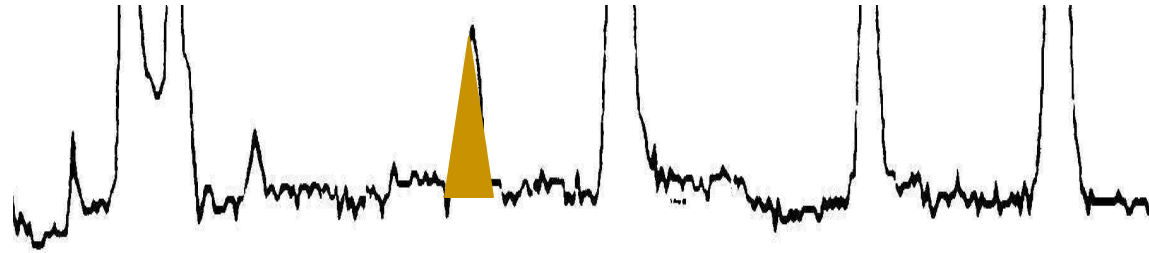
Cromatograma que muestra el ruido de línea base



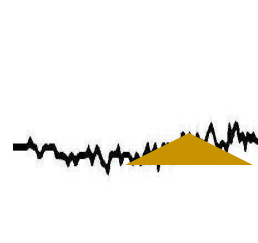
Desviación estándar del blanco

Ejemplo: Integración de un pico cromatográfico

Inyección estándar



Inyección blanco





LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN

- “La menor cantidad de analito en una muestra que puede determinarse con precisión y exactitud aceptables bajo las condiciones del experimento establecidas”. **USP 31 <1225>**
- En esencia, idéntico a ICH Q2A
- Límite de cuantificación (LC) = límite de cuantificación (LOQ)



Determinación/Validación del LC

- **No instrumental:**

a partir del análisis de muestras con un nivel adecuado mínimo de analito cuantificado con exactitud y precisión aceptables.

- **Instrumental:**

igual que para los métodos no instrumentales, más el hecho de que el cálculo del LC puede realizarse con un valor con el cual la relación entre señal y ruido es 10:1. **USP 31 (1225)**



Ejemplos de valoraciones cuantitativas (validación del LC)

- Métodos de valoración volumétrica (agua <921>)
- Métodos HPLC/GC (pureza cromatográfica)
- Métodos gravimétricos (pérdida por secado <731>)



INTERVALO

- El intervalo de un método analítico es la amplitud entre los niveles superior e inferior del analito (incluidos estos niveles) que se demostró que se determinó con un **nivel adecuado de precisión, exactitud y linealidad**, utilizando el método según se describe en el protocolo.

USP 31



LINEALIDAD

- **La linealidad de un método analítico es su capacidad para obtener resultados de prueba que sean proporcionales ya sea directamente, o por medio de una transformación matemática bien definida, a la concentración de analito en muestras en un intervalo dado.**

USP 31



Evaluación de linealidad

- **Debe utilizarse un mínimo de 5 puntos de datos para una evaluación adecuada**
- **Inspección visual del gráfico y método estadístico (línea de regresión, mínimos cuadrados)**



Consideraciones de linealidad e intervalo para el protocolo de validación

- Los criterios de aceptación deben equilibrar el rigor científico con las limitaciones prácticas
- Linealidad:
 - Valor r^2 mínimo: $\geq 0,99$ hasta $\geq 0,9999$
 - Intersección-y: estadísticamente no significativa, dentro del n % de la respuesta de la solución estándar
 - Apto para la valoración mediante un estándar de un solo punto
- Intervalo: necesario para resultados exactos y precisos



Linealidad e intervalo

Linealidad
de un analito en un material

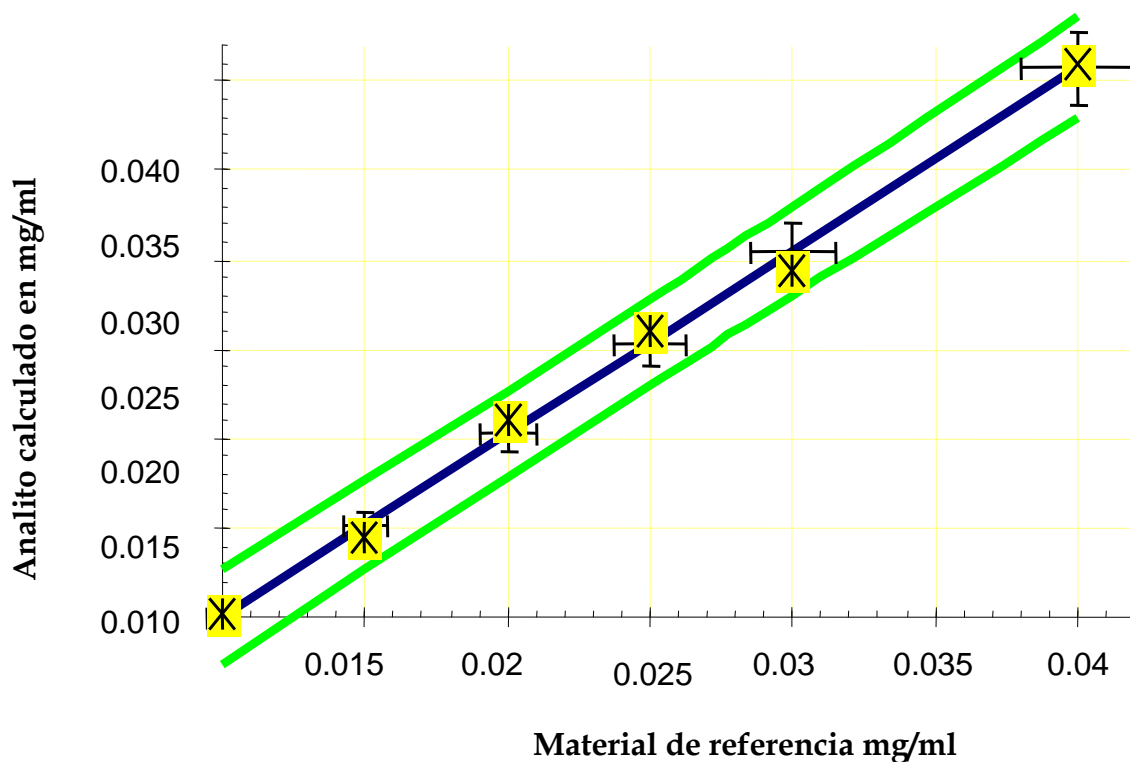


Tabla de valores
(x,y)

#	Material de referencia mg/ml	Material de referencia mg/ml
1	0.0100	0.0101
2	0.0150	0,0155
3	0.0200	0,0207
4	0.0250	0.0256
5	0.0300	0.0298
6	0.0400	0.0401



Estadística de linealidad

Taller 1

Una vez realizada la curva hacer el tratamiento estadístico aplicando el principio de la linealidad:

Ecuación de la línea recta:

$$y = a + bx$$

$$a = y - bx$$

$$b = \frac{\sum (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sum (x_i - \bar{x})^2}$$



Estadística de linealidad

- **Intercepto (a)** **-0.00056**
- **Límite de Linealidad e Intervalo** **0.005 – 0.040 mg/ml**
- **Pendiente (b)** **0,988857**
- **Coeficiente de correlación (r)**
 - **Pearson** **0.99952**
 - **Coeficiente de determinación (r²) =99,90%**
- **Desviación estándar relativa (CV%) del procedimiento** **1,37%**

“El test del coeficiente de los factores de respuesta menor del 5% indica linealidad “.... AEFI 2001



Comentarios con relación a los datos ANOVA

El gráfico muestra que el modelo ajustado corresponde a un modelo lineal que describe la relación entre lo esperado y lo obtenido y que responde a una línea recta y que permite hacer predicciones sobre otros valores corregidos

$$y = 0,00056 + 0,988857 * x$$

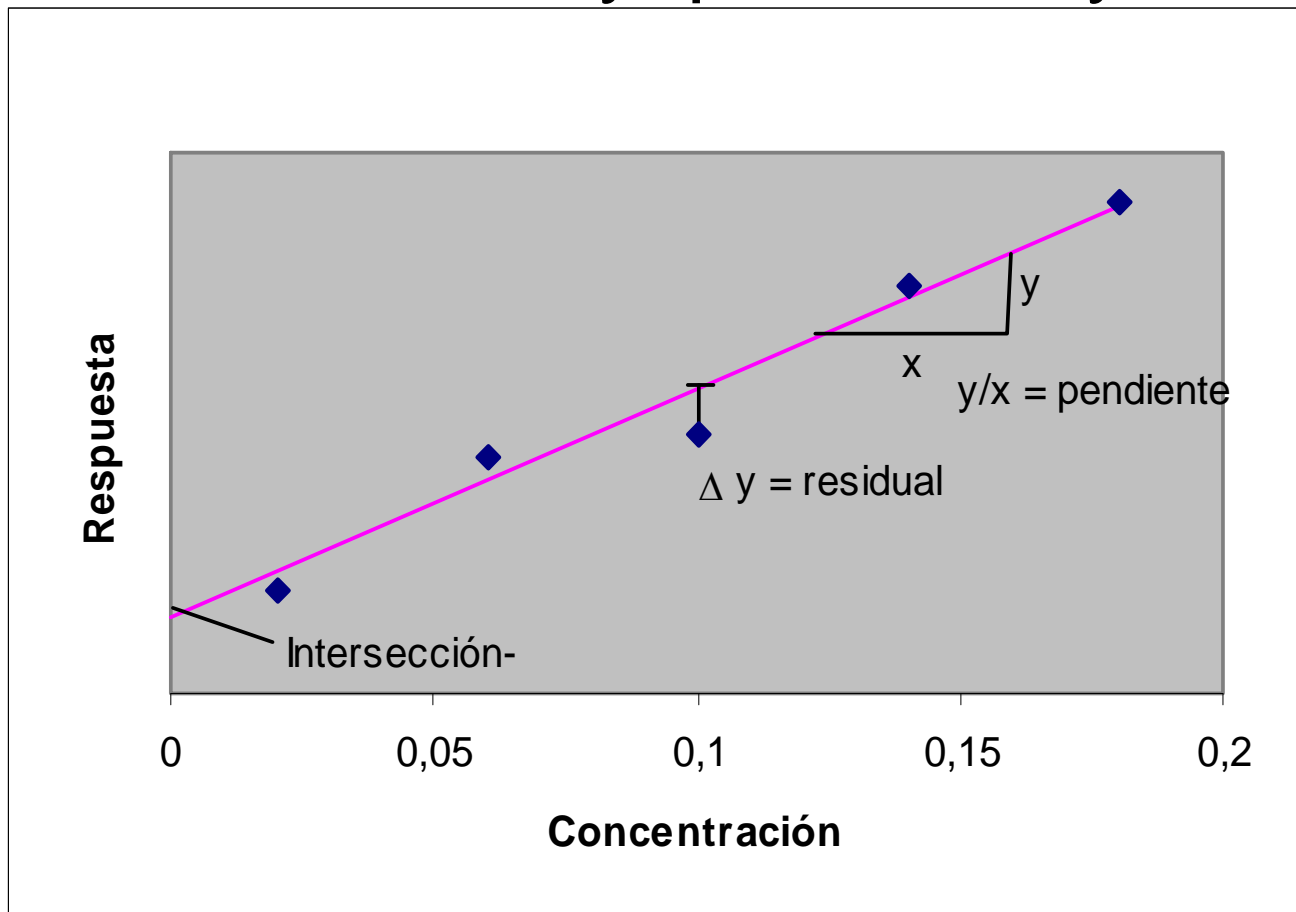
Como el P-value en la tabla ANOVA es menor que 0.01, existe una relación estadísticamente significativa entre la concentración del material de referencia y el resultado obtenido sobre las soluciones, a un nivel de confianza del 99% .

The R-Squared estadístico indica que el modelo ajustado explica el 99,90% de la variabilidad en los resultados obtenidos. El coeficiente de correlación igual a 0,99952, indica una relación muy fuerte entre las variables. El error estándar estimado, de los residuales, muestra una desviación estándar de 0,00038099. Este valor puede ser usado para construir límites de predicción para nuevas observaciones.



Análisis de regresión

- Intersección-y, pendiente y residuales



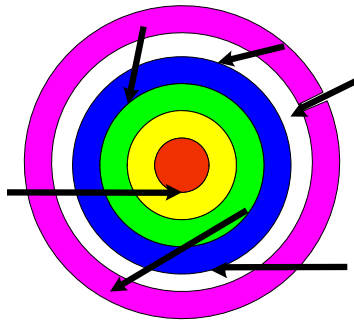


Características de los procedimientos analíticos

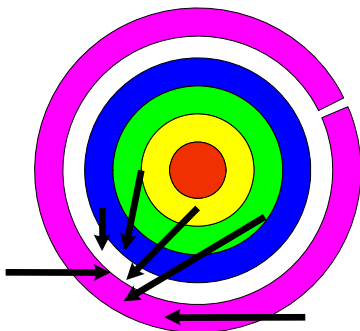
- **Exactitud**
- **Precisión**
- **Repetibilidad**
- **Reproducibilidad**



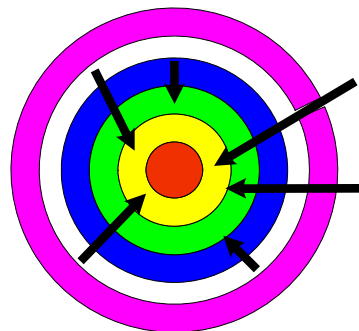
Relación entre exactitud y precisión



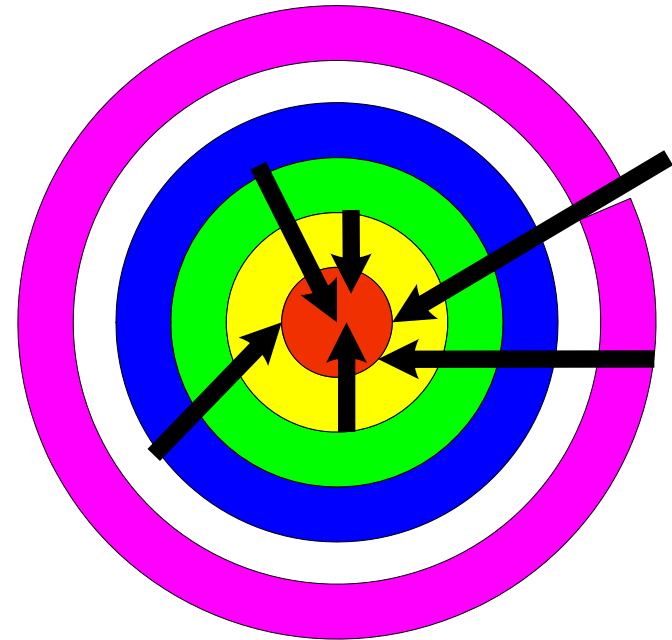
inexacto e impreciso



preciso pero inexacto



Exacto pero impreciso



Exacto y preciso



Exactitud

- Calculado como el porcentaje de analito recuperado o
- por la diferencia entre el valor obtenido y el valor real *evaluado estadísticamente*



Exactitud

- **5 maneras de determinar la exactitud**
 - Prueba de un Estándar de Referencia
 - Mezcla con excipientes (placebo con una cantidad agregada conocida)
 - Agregado de estándar (muestra con cantidad agregada conocida)
 - Se deduce a partir de **los datos de especificidad** y linealidad.
 - Comparación con un método reconocido como exacto (método de referencia)



PRECISIÓN

- El grado de coincidencia entre los resultados de las muestras individuales de una muestra homogénea
- La precisión debe evaluarse a través del intervalo de cuantificación especificado en el método



Precisión comparada con exactitud

- **La exactitud se expresa como % de recuperación**
- **La precisión se expresa como Desviación Estándar Relativa (RSD)**



Precisión

- **Determinación:**
 - Valoración de las muestras individuales de una preparación homogénea
 - Calcular la desviación estándar o la desviación estándar relativa

- La precisión del método debe incluir todas las fuentes de variación desde la preparación de la muestra hasta el redondeo del resultado final de la prueba



Niveles de precisión ICH-USP

- **Repetibilidad**: coincidencia dentro de un periodo *corto* para el *mismo analista con la misma instrumentación*
- **Precisión intermedia**: coincidencia en los resultados del *mismo laboratorio, pero en días distintos con analistas y equipo diferentes* (según corresponda)
- **Reproducibilidad**: coincidencia en los resultados entre laboratorios (como en un estudio colaborativo).



Precisión

■ Repetibilidad (5 inyecciones repetidas)

<input type="checkbox"/> <u>Límite de valoración (%)</u>	<u>% RSD máxima</u>
99,0 – 101,0	0,37 ¹
98,5 – 101,5	0,55 ¹
98,0 – 102,0	0,73 ¹
95,0 – 105,0	1,9 ²
90,0 – 110,0	3,9 ²
Impurezas	5 a 25 ²

- dependiendo del nivel

DER = Desviación estándar Relativa (RSD)

¹ *Pharmaeuropa*, **11**(4), 571-577

² *Pharm. Technol.*, **6**(9), 120-137



Precisión

■ Precisión intermedia:

- La FDA recomienda un mínimo de 2 días distintos con analistas diferentes.
 - FDA (CDER), *Guía del revisor: Validación de métodos cromatográficos*, nov. 1994

□ Criterios de aceptación:

- Realizar la prueba-F, los resultados intra laboratorios no deben ser estadísticamente distintos.
- Típicamente, alrededor de 2 veces la **s o el CV%** de la repetibilidad

Sin embargo, una diferencia estadística puede no ser significativa (consideración práctica).

Necesidad de evaluar la aptitud para la indicación de los métodos

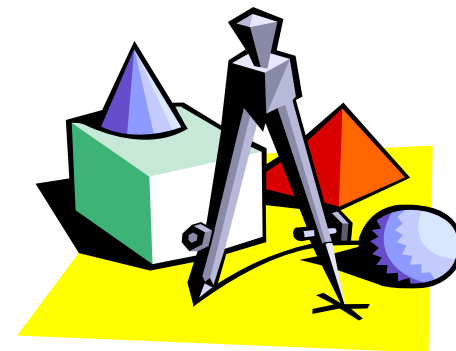


TOLERANCIA, FORTALEZA

La tolerancia es el grado de **REPRODUCIBILIDAD** del método analítico, en diversas condiciones:

■ Variabilidad causada por :

- Variaciones de día a día
- De analista a analista
- De laboratorio a laboratorio
- De instrumento a instrumento
- De columna cromatográfica a columna cromatográfica
- De estuche de reactivos a estuche de reactivos
- Inestabilidad de los reactivos analíticos





ROBUSTEZ

- **La USP 31 la define como “una medida de la capacidad del método analítico, y demuestra que no resulta afectado por pequeñas pero deliberadas variaciones en los parámetros del método y proporciona una indicación de su confiabilidad durante su uso normal”.**

TRANSFERENCIA DE MÉTODOS



APTITUD DEL SISTEMA

- **“Si las mediciones son susceptibles a variaciones en condiciones analíticas, éstas deben controlarse adecuadamente o incluirse en el método una declaración preventiva.”**

“Las pruebas de aptitud del sistema se basan en el concepto que el equipo, el sistema electrónico, las operaciones analíticas y las muestras a analizar constituyen un sistema integral que puede evaluarse como tal.”

- ***Las inyecciones repetidas de una preparación estándar empleada en la valoración u otra solución estándar se comparan para determinar si cumplen con los requisitos de precisión.***

USP 31 (621)



APTITUD DEL SISTEMA

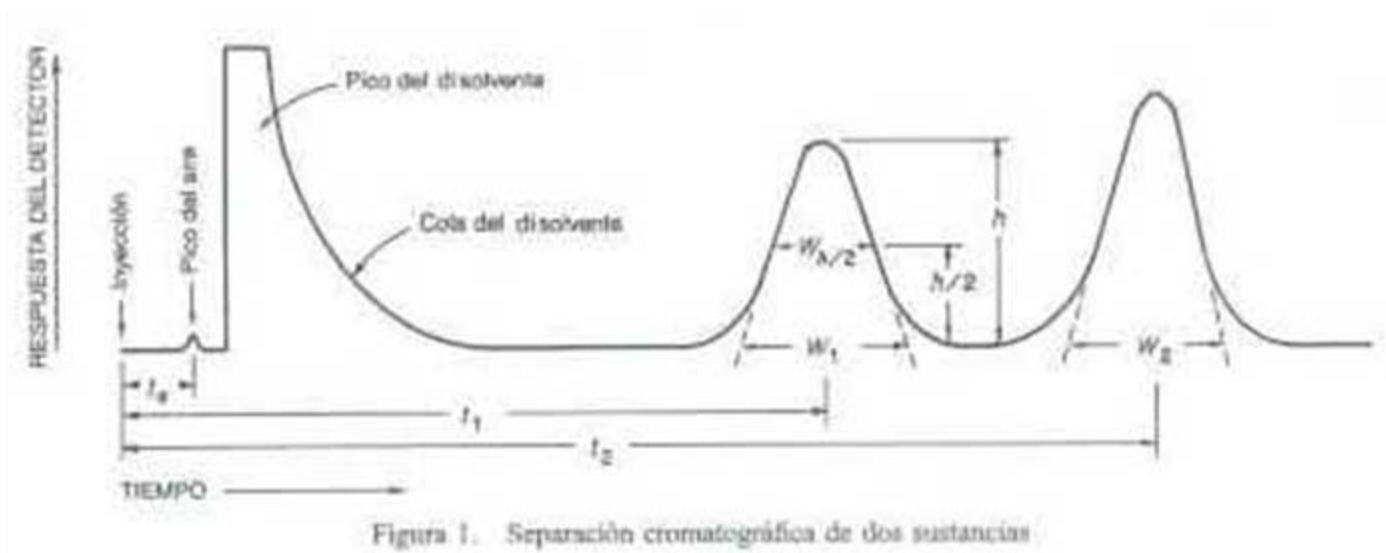
Resolución R cuando se tiene mas de un analito

$$R = \frac{1}{4} (N^{1/2}) (\alpha - 1 / \alpha) (k' / k' + 1)$$

E f i c i e n c i a

C a p a c i d a d

S e l e c t i v i d a d



USP 31 (621)



APTITUD DEL SISTEMA

- A menos que se especifique algo diferente en la monografía individual, se emplean los datos de cinco inyecciones repetidas del analito para calcular la desviación estándar relativa s , si el requisito es 2% o menos.
- Se emplean los datos de seis inyecciones repetidas si el requisito de s es más de 2%.
- *Las inyecciones repetidas de una preparación estándar empleada en la valoración u otra solución estándar se comparan para determinar si cumplen con los requisitos de precisión.*

USP 31 (621)



APTITUD DEL SISTEMA

- El factor de asimetría T , es una medida de la asimetría del pico, es la unidad para los picos perfectamente simétricos y su valor aumenta a medida que la asimetría es más pronunciada. En algunos casos, pueden observarse valores menores a la unidad A medida que la asimetría del pico aumenta, la integración y por lo tanto la precisión se tornan menos confiables.

■ Estas pruebas se realizan mediante la recolección de datos de inyecciones repetidas del estándar u otras soluciones, según se especifique en el monografía individual

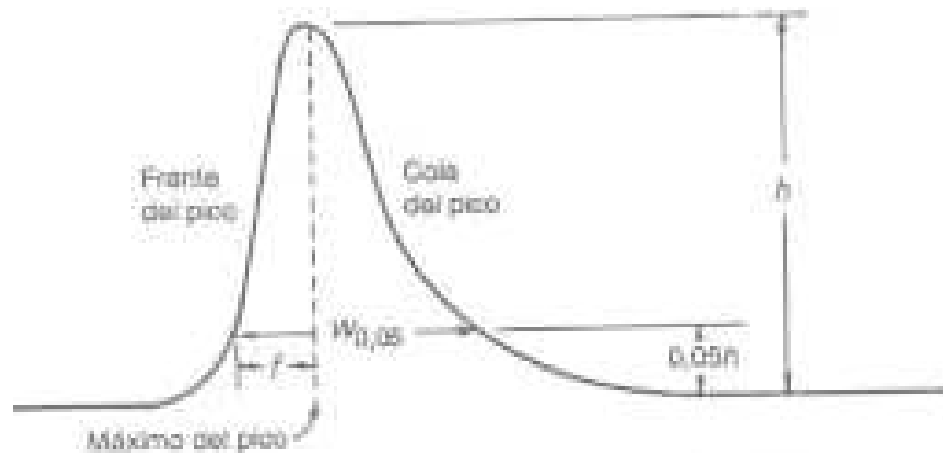
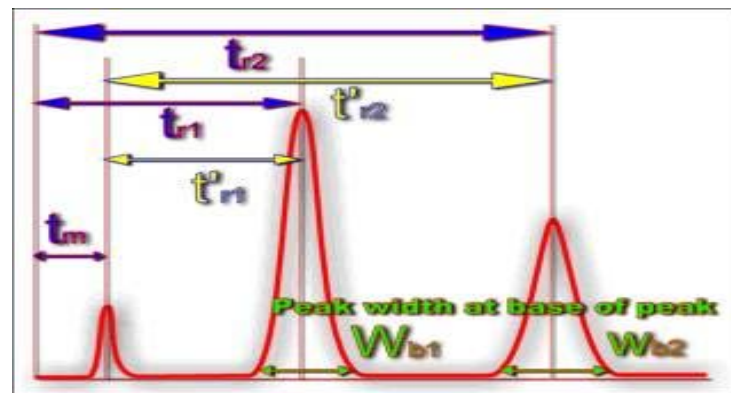


Figura 2. Pico cromatográfico asimétrico

APTITUD DEL SISTEMA

- Aunque una monografía especifique los parámetros definitivos que se deben utilizar, esto no impide utilizar otras condiciones operativas adecuadas y puede ser necesario realizar ajustes en las condiciones operativas, para cumplir con los requisitos de aptitud del sistema.
- A menos que se especifique algo diferente en la monografía, los parámetros de aptitud del sistema se determinan a partir del pico del analito.



USP 31 (621)



APTITUD DEL SISTEMA

- Se permite ajustes sólo cuando se encuentran disponibles estándares adecuados, (incluyendo los de referencia), de todos los componentes usados en la prueba de aptitud del sistema y sólo cuando estos estándares sean los usados para demostrar que los ajustes han mejorado la calidad de la cromatografía en cuanto a los requisitos de cumplimiento de aptitud del sistema .
- Múltiples ajustes pueden tener un efecto acumulativo en el desempeño del sistema y deben considerarse antes de implementarlos.



USP 31 (621)



APTITUD DEL SISTEMA

Se puede considerar cada una de las siguientes variaciones máximas, a menos que la monografía indique algo diferente.

- pH de la fase móvil $\pm 0,2$ unidades
- Concentración de la solución amortiguadoras : se permite $\pm 10\%$ siempre y cuando conserve la variación de pH
- Relación de los componentes de la fase móvil: $\pm 10\%$ absoluto y 30% relativo
- Longitud de onda del UV-visible: Error permitido máximo del detector ± 3 nm
- Longitud de la columna puede ajustarse hasta el 70%
- Diámetro interno CG, HPLC $\pm 25\%$
- Longitud de la columna de HPLC $\pm 50\%$

USP 31 (621)



APTITUD DEL SISTEMA

- HPLC tamaño de partícula puede reducirse hasta 50%
- CG Tamaño de la partícula conserva el cociente de intervalo entre la más grande y la más pequeña
- Velocidad de flujo puede ajustarse hasta $\pm 50\%$
- Volumen de inyección reducirse hasta los LD , LC y precisión aceptados
- Temperatura de la columna puede ajustarse hasta $\pm 10\%$
- Temperatura de horno puede ajustarse hasta $\pm 10\%$
- Programa de Temperatura horno CG hasta $\pm 20\%$
- A MENOS QUE SE ESPECIFIQUE OTRA COSA los parámetros de aptitud del sistema se determinan a partir del pico del analito.

USP 31 (621)



APTITUD DEL SISTEMA

- Los tiempos de retención relativos son sólo informativos, facilitan la identificación de los picos.
- Para determinar la eficacia del sistema operativo final, se lo debe someter a una prueba de aptitud.
- Las inyecciones repetidas de la preparación estándar requeridas para demostrar que la precisión del sistema es adecuada , pueden realizarse antes de inyectar las muestras o intercalarse entre las inyecciones de las muestras.
- Se debe demostrar la aptitud del sistema durante toda la corrida mediante inyecciones de una preparación control adecuada a intervalos apropiados, incluso al final del análisis.



APTITUD DEL SISTEMA

- La preparación control puede ser una preparación estándar o una solución que contenga una cantidad conocida, y cualquier otro material adicional útil para el control del sistema analítico. Como por ejemplo impurezas o excipientes.
- Siempre que haya un cambio significativo en el equipo o en un reactivo crítico, la prueba de aptitud debe realizarse antes de inyectar las muestras,
- *Ningún análisis de muestras es aceptable a menos que cumpla los requisitos de aptitud del sistema. Los análisis de muestras obtenidos cuando el sistema no cumple con la condición de aptitud es inaceptable.*



Verificación de procedimientos farmacopéicos

Los usuarios de los procedimientos analíticos farmacopéicos no necesitan validar estos procedimientos cuando los usan por primera vez, aun cuando debe establecer evidencias documentadas de aptitud en las condiciones reales, FDA estableció este requisito en el punto 21 CFR 211.194 a 2 .” Se verificará la aptitud de todos los métodos de prueba usados bajo las condiciones reales de uso “.

No incluye los microbiológicos



Verificación de procedimientos farmacopéicos

EL PROCESO DE VERIFICACION, da confianza en que los procedimientos se llevan a cabo con la aptitud requerida

Si la verificación no es exitosa y la consulta y asistencia del personal USP, no logra solucionar el problema, se puede concluir que el procedimiento posiblemente, no es apto para usar en el artículo que se está evaluando en el laboratorio y entonces se hace necesario validar el método analítico.

USP 31 (1226)



Verificación de procedimientos farmacopéicos

REQUISITOS DE LA VERIFICACION

Evaluar la complejidad del procedimiento y del material sometido a análisis. Se usan algunas de las características del desempeño analítico, las que se consideren adecuadas, la extensión depende de la formación y competencia del analista, el tipo de procedimiento, el equipo e instrumentos asociados, los pasos específicos del procedimiento y el artículo, por ejemplo exactitud por las diferentes matrices. LD y LC

USP 31 (1226)



Reporte de Validación

① Objetivo y alcance del método, aplicabilidad

② Tipo de analito y la matriz sobre la que se hizo la validación,

③ Detalles del analito, reactivos, estándares de referencia y control y estabilidad de las muestras preparadas.

④ Procedimiento para la verificación de la calidad de los estándares y reactivos químicos usados

⑤ Condiciones de seguridad





Reporte de Validación

⑥ Parámetros del método

⑦ Parámetros críticos establecidos a través del test de robustez

⑧ Listado de equipos, funcionamiento, condiciones de desempeño. IQ, OQ, PQ

⑨ Detalle de las condiciones y cómo fue realizado el proceso, incluyendo la preparación de la muestra

⑩ Tratamiento estadístico y cálculos realizados

⑪ Procedimientos de control rutinario



Reporte de Validación

⑫ Registros como cromatogramas,
espectros y curvas de calibración

⑬ test de aceptación de las variables

⑭ Resultados de la incertidumbre de
la medición

⑮ Criterios para revalidación

⑯ Persona que desarrolló y validó el
método inicialmente

⑰ Resumen y conclusiones