



Universidad de Chile
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas
Departamento de Ciencia y Tecnología Farmacéutica
Laboratorios Bayer S.A.

CALIFICACIÓN DE EQUIPOS HPLC Y VALIDACIÓN DE
METODOLOGÍAS ANALÍTICAS
Validación de metodología Analítica de Aspirina® 500mg

Unidad de Práctica Prolongada para optar al título de Químico-Farmacéutico
ÁLVARO ANDRÉ VÁSQUEZ ORTÍZ

María Teresa Andonaegui A
Químico Farmacéutico
Profesor Guía

Gustavo Parra N.
Químico Farmacéutico
Monitor de Práctica

Santiago – Chile
2006

Dedicatoria

No existen palabras capaces de retribuir el continuo e infinito amor, apoyo, comprensión y tiempo entregado por mi familia sin la cual, no me hubiese sido posible avanzar en este gran tablero que llamamos vida. Tengo el corazón hinchado de alegría, de dicha y serenidad ya que se que puedo contar incondicionalmente con ellos, es por esto que dedico este trabajo a ellos como una pequeña forma de retribuirles. No quisiera dejar de lado a todas esas personas que han marcado con fuego mi alma, entregando su amor, amistad, consejos y buena voluntad.

Agradecimientos

Estoy profundamente agradecido a la profesora María Teresa Andonaegui su entrega de conocimientos, preocupación y oportunidades otorgadas desinteresadamente, además del tiempo, apoyo y afecto que me entrego cuando más lo necesité. Agradezco a Laboratorios Bayer S.A. el recibirme y permitir llevar a cabo este trabajo, al Sr. Q.F. Gustavo Parra N. por la ayuda que me presto, sus conocimientos, apoyo y tiempo y al gran equipo que con el trabaja, gente distinta entre si, pero con el común denominador de ser grandes y hermosas personas.

Tabla de Contenido

Portada	i
Dedicatoria	ii
Agradecimientos	iii
Tabla de contenido	iv
Índice de Ilustraciones	vi
Índice de Anexos	vii
Resumen	viii
Introducción	1
Reseña de la pasantía por Laboratorios Bayer Chile	7
Actividades desarrolladas durante la Práctica Prolongada	7
Objetivos	8
Objetivo general	8
Objetivo específico para la Calificación	8
Objetivo específico para la Validación	10
Metodología	11
Materiales y Métodos para la calificación	12
Descripción del área	12
Requisitos previos para la Calificación	12
Método utilizado para calificar los equipos HPLC	12
Materiales y Métodos para la Validación	13
Requisitos previos para la Validación	13
Materiales y métodos utilizados para la Validación	13
Protocolo para la calificación de los HPLC	14
Procedimiento para la calificación de los HPLC	16
Procedimiento de Calificación de Instalación	16
Procedimiento de Calificación Operacional	19
Procedimiento de Calificación de Funcionamiento	22
Requisitos que deben cumplir los Equipos HPLC	25
Protocolo de Validación de la Metodología Analítica	26
Breve descripción del proceso a validar	26

Tipo de Validación	26
Razón de la Validación	26
Responsables de la Validación	27
Revisión y aprobación del Protocolo de Validación	27
Metodología	28
Análisis a realizar	28
Condiciones de análisis	29
Procedimiento de análisis	29
Criterios de aceptación para la Validación	30
Pruebas de adecuación visual del sistema	30
Límite de detección	30
Linealidad	30
Precisión	30
Resultados y discusión para la Calificación	31
Conclusión de la calificación	39
Resultados y discusión para la Validación	40
Conclusión de la validación	47
Conclusiones final	48
Bibliografía	49

Índice de ilustraciones

Figura N°1	1
C1 Cromatograma de la primera inyección de prueba (HPLC N°3)	37
C3 Resultados de la prueba HPLC N°3	38
C4 Cromatograma Blanco (Aspirina)	40
C5 Cromatograma Límite de cuantificación (AS)	41
C6 Cromatograma del estándar (AAS)	42
C7 Cromatograma Muestra (Aspirina 500mg)	43

Índice de Anexos

Glosario

50

Resumen

El presente trabajo trata de cómo se realizó la validación de la metodología analítica de contenido de dos medicamentos que actualmente se encuentran comercializados en el mercado nacional. Esta metodología está validada y es utilizada actualmente en otra filial de Bayer S.A. por lo que se hizo necesario validarla con las condiciones de trabajo del Laboratorio de Control de Calidad de Bayer S.A. Chile.

Para esto fue necesaria la calificación de los equipos en que se realizó la validación de las metodologías. Las calificaciones realizadas fueron: Calificación de Instalación (IQ), la Calificación Operacional (OQ) y de la Calificación Desempeño (PQ), las que se desarrollaron en los equipos de Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC) en los cuales se realizó la validación de la metodología analítica.

Esta validación fue necesaria para garantizar que las metodologías de análisis de los medicamento a validar, son aplicables al Laboratorio de Control de Calidad, además fue imprescindible aplicar los criterios establecidos por este laboratorio (POSS), para la validación del método.

Antes de dar comienzo a las calificaciones de los equipos, y posterior validación de las metodologías analíticas, se realizó una revisión de la documentación, tanto de los equipos a calificar como de los materiales e instrumentos que también serían utilizados durante la calificación y validación, comprobándose que los instrumentos a utilizar se encontrasen calibrados y contasen con sus respectivos certificados y además se verificó que los estándares utilizados poseían sus respectivos certificados de análisis.

Para comenzar la calificación y posterior validación fue necesario definir los puntos críticos a controlar tanto en los equipos como también los puntos críticos de la metodología analítica, además de determinar la factibilidad técnica de los HPLC en su funcionamiento para la realización de la validación.

La validación de la metodología se acotó a las especificaciones de identificación y cuantificación del principio activo que compone al medicamento y no al análisis completo de las especificaciones que éste debe cumplir.

Los resultados obtenidos junto con los registros de la calificación del equipo, permiten aseverar que los equipos HPLC se encuentran calificados para la realización, en ellos, de pruebas de las metodologías analíticas.

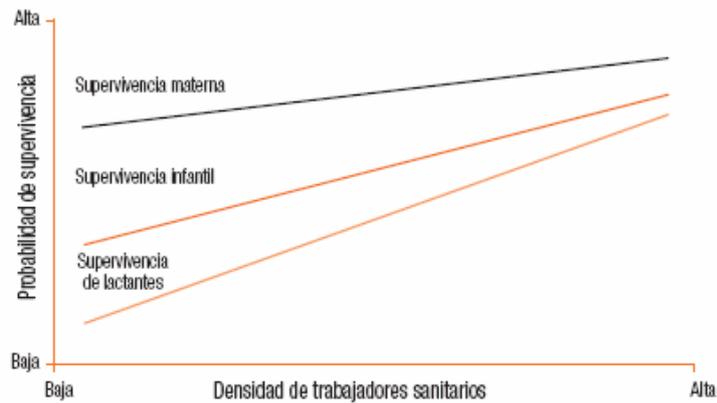
Con los datos obtenidos al final de las validaciones de las metodologías analíticas de los medicamentos que se realizaron, se puede concluir que los métodos de análisis de los medicamentos analizados son factibles de realizar en los equipos, y se encuentran validados debido a que cumplen con los criterios de aceptación establecidos por el Laboratorio de Control de Calidad.

Introducción

En esta primera década del siglo XXI, enormes avances en el bienestar humano coexisten con privaciones extremas. En la salud mundial somos testigos de los beneficios que están aportando los nuevos medicamentos y tecnologías.

La comunidad internacional cuenta con tecnologías y recursos económicos suficientes para hacer frente a la mayoría de los desafíos sanitarios, pero hoy día muchos sistemas de salud nacionales son endeble, indiferentes a las necesidades, no equitativos e incluso inseguros. Lo que se necesita ahora es voluntad política para poner en marcha planes nacionales, junto con medidas de cooperación internacional para coordinar recursos, aprovechar los conocimientos y desarrollar sistemas sanitarios robustos que traten y prevengan las enfermedades y promuevan la salud de la población. Para superar los escollos que obstaculizan el logro de los objetivos nacionales y mundiales en materia de salud es fundamental formar trabajadores sanitarios competentes, motivados y bien respaldados. (1)

Figura 1 ¡Los trabajadores sanitarios salvan vidas!



Como es posible de apreciar en la Figura 1, un aumento de trabajadores de la salud está estrechamente relacionado con la supervivencia de la población y si estos trabajadores se encuentran bien capacitados la pendiente es aún mayor. La supervivencia de la población en general sigue esta tendencia, si cuenta con una

política gubernamental, una autoridad sanitaria idónea, recursos y con profesionales sanitarios capaces de velar por la salud de la población.

En este contexto el profesional Químico Farmacéutico se encuentra suficientemente capacitado para atender y responder a las necesidades de la población, la que cada día se encuentra más ávida de información y preocupada por la calidad de los medicamentos que consume.

Una pregunta que parece lógica plantear respecto a la morbilidad, mortalidad y uso en general de los medicamentos es la siguiente: ¿quién es el responsable del uso adecuado de los medicamentos? Tradicionalmente el médico ha asumido la responsabilidad del tratamiento farmacológico sus pacientes. Sin embargo, la evolución de los sistemas sanitarios en todo el mundo y los diversos estilos de vida de los consumidores hacen que sea extremadamente difícil, si no imposible, que un médico asuma por sí solo esta tarea cada vez más compleja. Evidentemente, los médicos disponen cada vez de menos tiempo para dedicarlo a los pacientes, por lo que el tiempo necesario para afrontar los problemas de los medicamentos, reales o potenciales, se está reduciendo también (2).

Es rol fundamental del Profesional Químico Farmacéutico el asumir la responsabilidad de todos los eventos relacionados con los medicamentos, desde su génesis hasta que es administrado al paciente (y si no es así, hasta su destrucción) pasando por la producción, almacenaje, distribución, traslado y posterior venta del medicamento. Además de la obligación y del deber que tiene, que es el de complementar al médico y ayudar en la orientación a los pacientes, acerca del uso y/o consumo y cuidados que siempre deben tener los medicamentos.

Según donde se encuentre ejerciendo el Químico Farmacéutico con respecto a la producción o elaboración de un medicamento, se puede señalar como una de las diferencias más notables en la preparación de un medicamento en una farmacia y a nivel industrial, es que en la primera, todas las operaciones son llevadas a cabo o a lo menos controladas por un Químico Farmacéutico, mientras que a nivel industrial las operaciones son en su mayoría llevadas a cabo por operarios bajo la supervisión de un profesional (3). Es por esto, que los Químicos Farmacéuticos tienen una gran responsabilidad frente a las Autoridades Sanitarias locales, pero más importante que ello es la responsabilidad de velar por la buena calidad de los medicamentos.

El Químico Farmacéutico que ejerce en la industria farmacéutica se ha mantenido y se mantiene en una posición privilegiada, debido posiblemente al medio en que se desempeña. Sus funciones se mantienen y experimentan pocos cambios con el tiempo, a pesar que en los últimos años la mayoría de las grandes compañías farmacéuticas transnacionales han cerrado sus plantas de producción, dejando más reducido el campo para el Químico Farmacéutico (4).

A pesar de esto, la importancia y el valor del Químico Farmacéutico en los Laboratorios Farmacéuticos internacionales, no podrá ser sustituido ya que continúa cumpliendo y ejerciendo labores de gran importancia en todos los aspectos que tienen relación con la calidad de los medicamentos.

Una pregunta muy importante que surge es: ¿Quién asegura y como se asegura la calidad de los medicamentos? Aparentemente puede verse muy simple, pero en realidad presenta una complejidad tremenda responder el “como” a cabalidad, debido al gran número de aristas que tiene ligada intrínsecamente esta pregunta. Para responder él quien, debemos pensar en un profesional que tenga sólidos conocimientos en medicamentos, y quien más apto que el Químico Farmacéutico, por lo tanto es el, quien debe asegurar la calidad del medicamento, y no tan solo en una ocasión sino que en diferentes instancias y cada una independientes entre si, ya sea en el desarrollo de la formulación, la producción del medicamento, el Control de Calidad del medicamento, etc.

Ahora, para responder el cómo se asegura la buena calidad de los medicamentos se debe conocer las Buenas Practicas de Manufactura (GMP siglas del ingles). Estas tienen sus orígenes en Estados Unidos (1962) con la finalidad de crear una ley de protección al consumidor, con esta nueva reforma todos los establecimientos farmacéuticos debían registrarse ante la Food and Drug Administration (FDA), lo que permitió a esta agencia actualizar el registro de los fabricantes de medicamentos e inspeccionarlos cada dos años.

En 1963, la FDA publicó una reglamentación que establecía requerimientos específicos para la elaboración de medicamentos, primeras GMP, las que se divulgaron por todo el mundo, en un comienzo se tomaron como una recomendación útil de carácter práctico, sin fuerza ni efecto legal, sólo interpretaba la responsabilidad del Químico Farmacéutico frente al medicamento (Código de ética profesional). En el año 1973 y

debido a demandas presentados por la FDA ante las cortes, a algunas farmacéuticas, la Corte Suprema de Justicia de los Estados Unidos, falló a favor de la FDA. A partir de este fallo toda normativa adoptada por la FDA debería ser considerada con carácter y fuerza legal, por lo que todo medicamento que se fabricase fuera de estas normas sería considerado como un medicamento adulterado. Por lo tanto la FDA responsabilizó a los fabricantes de la calidad de sus productos y les exigió desarrollar procedimientos de manufactura y aseguramiento de la calidad para cada uno de ellos (3).

Entonces, las Buenas Prácticas de Manufactura (GMP) son un amplio rango de conceptos de Aseguramiento de Calidad que cubren todos los temas que individual o colectivamente tienen influencia en la calidad de un producto. Es la suma de las actividades llevadas a cabo para asegurar que los productos medicinales y los dispositivos médicos para uso humano y animal son de la calidad requerida para su uso propuesto.

Dentro de las GMP se encuentra contemplado un capítulo o elemento de calidad de calificación y validación. Este elemento de Calidad trata de los requerimientos GMP relativos a la calificación de los equipos para la manufactura y control y utilitarios, así como de la validación de métodos analíticos, procesos de manufactura, procesos de limpieza y sistemas computarizados (5).

Con respecto a la calificación se puede decir que se trata del establecimiento de evidencia documentada de las instalaciones, los sistemas utilitarios y otros equipamientos técnicos incluidos los sistemas computarizados han sido correctamente encargados y que funcionan en forma confiable, dentro del rango especificado de operación. La calificación de los equipos da los elementos para la validación de procesos.

La calificación consta de 4 procedimientos básicos:

- Calificación de Diseño (DQ) Se realiza sólo a equipos nuevos
- Calificación de Instalación (IQ). Debe establecer por medio de evidencia objetiva, que todos los aspectos claves del equipo y los necesarios para la instalación, se encuentran conformes con la especificación aprobada y las recomendaciones dadas por el fabricante.

- Calificación de la Operación (OQ). Debe demostrar que el equipo o la maquinaria involucrada en el proceso en el estudio, opera como se definió en el diseño y determinar los valores óptimos de operación para cada una de sus variables de control.
- Calificación del Funcionamiento (PQ). Corresponde al desafío al sistema en condiciones operacionales y en la situación más desfavorable para demostrar su funcionamiento correcto y constante, con la aplicación de las herramientas del diseño estadístico de experimentos y del control estadístico de procesos para la determinación del ajuste óptimo de las variables de control. En otras palabras podemos decir que la calificación de funcionamiento corresponde a la validación del proceso realizado por el equipo (6).

Acabamos de de ver a grandes rasgos lo que es la calificación y en que consta, ahora veremos aspectos generales de la validación.

La validación es la acción documentada que demuestra que cualquier procedimiento, proceso o actividad conducirá consistentemente a los resultados esperados. Esto incluye la calificación de sistemas y equipamiento.

Como parte de los programas de calidad o del plan de calidad o de la política de las empresas, se están desarrollando o implementando nuevas metodologías y/o procesos enmarcado en las mejoras continuas, y para cumplir este fin es que todo nuevo método debe validarse, para demostrar documentadamente su idoneidad. Si el método no es nuevo y se utiliza rutinariamente, entonces no es necesario el iniciar una validación desde cero, por lo que para estos casos se puede definir una validación retrospectiva basada en datos acumulados de producción, pruebas y de control, donde se pueden combinar nuevos criterios de validación con la experiencia adquirida, o se puede desarrollar análisis estadísticos de los registros arrojados por el método durante el tiempo en que se ha utilizado. En contraposición a este tipo de validación se encuentra la validación prospectiva que se desarrolla con un producto nuevo o producto hecho bajo un proceso de fabricación revisado, donde las revisiones pueden afectar las características del producto. Por último, se puede realizar la validación concurrente que es utilizada cuando no hay datos disponibles del proceso y se lleva a cabo durante el proceso (7).

En muchos casos un método analítico es desarrollado y validado por un grupo de trabajo, típicamente el Laboratorio de Desarrollo analítico y aplicado a otro grupo, como por ejemplo el Laboratorio de Control de Calidad. Para asegurar que el laboratorio de aplicación sea capaz de entregar resultados confiables, es conveniente realizar una transferencia de validación. En el caso de métodos cromatográficos, la transferencia de validación consiste en la comparación de resultados de las pruebas de adecuación y de análisis en paralelo de, a lo menos, dos muestras homogéneas de concentraciones conocidas, dentro de un rango de aceptación del producto o dentro del rango de aplicación de la metodología. Por otra parte, una revalidación se hace necesaria con métodos validados previamente, pero que deben volver a evaluarse por modificaciones, instrumentales, de la matriz que contiene la muestra o de la proporción relativa del analito.

Una vez que es desarrollado un método de análisis por HPLC, al igual que toda técnica analítica, deberá validarse, es decir, se debe documentar que cualquier procedimiento, proceso o actividad conducirá consistentemente a los resultados esperados.

En lo referente a los productos farmacéuticos codificados en la USP, se consideran validados y el único requerimiento es el cumplimiento del test de adecuación indicado en cada monografía: en general se inyecta una sustancia definida y se verifica que la resolución entre el pico del analito y dicha sustancia sea superior a cierto valor indicado; además se mide y controla la precisión, asimetría del pico y eficiencia y se permite ajustar la fuerza de la fase móvil para cumplir con los requerimientos mínimos.

Es importante destacar que la validez de estos métodos es ampliamente discutible. Diferencia entre distintas formas farmacéuticas, tipos y calidad de las materias primas empleadas por cada fabricante, hacen necesario validar la metodología para cada producto en particular, elaborado o semielaborado. (6)

Se debe tener bien en claro que tanto o más importante que las normas en sí, son los principios y valores éticos y morales de cada profesional como también de cada persona que está relacionada directa o indirectamente con los medicamentos para solo así, garantizar y asegurar la buena calidad de éstos.

Reseña de la pasantía por Laboratorios Bayer Chile

Bayer Chile S.A. se encuentra constituido por diferentes divisiones, la división en la cual me desempeñé fue BayService, la cual se encuentra subdividida en: Laboratorio de Control de Calidad; Garantía de Calidad, Bodega BayService y Sección Empaque. La gerente de esta división, junto con el Jefe de Control de Calidad y la Responsable de la Garantía de Calidad son los profesionales Químicos Farmacéuticos que laboran en esta división.

El Laboratorio se encuentra inserto en una política de mejora continua, por lo que trabaja y cumple con políticas GMP. Estas políticas son dictadas por la casa matriz de Bayer en Alemania (Bayer AG).

Durante el periodo de práctica prolongada realizado en el Laboratorio de Control de Calidad desarrolle las siguientes actividades:

- Descripción de los 4 equipos HPLC con que cuenta el Laboratorio de Control de Calidad: esta actividad fue con el objeto de comprensión de los equipos tanto en sus características como en el funcionamiento de sus distintos módulos, con la información recavada se actualizaron los datos que se mantenían, de los equipos.
- Autocapacitación en los POS (Procedimientos Operativos Estándar) que se manejan en el Laboratorio (medidas de seguridad, y manejo de materiales y equipos):
- Manejo de los instrumentos y materiales utilizados en el Laboratorio.
- Manejo de los distintos equipos utilizados en el Laboratorio de Control de Calidad (Balanzas, Durómetro, Equipo Carl Fisher, Desintegrador, Equipo de Disolución, Espectrofotómetro, HPLC de diferentes configuraciones).
- Aplicación de Protocolos de análisis de medicamentos: para el análisis de los distintos medicamentos se debieron seguir los protocolos de análisis de cada medicamento analizado respectivamente.
- Calificación de dos equipos HPLC (N° 2 y N°3)
- Validación de dos metodologías de análisis de contenido (Aspirina® y Avelox®)

Es bueno mencionar la ayuda y apoyo que recibí por parte del Jefe del Laboratorio de Control de Calidad y de las personas que con el trabajan que me permitieron insertarme dentro de este gran equipo de trabajo en el Laboratorio de Control de Calidad, facilitándome el aprendizaje del manejo de los equipos e instrumentos que son empleados, también me permitieron conocer los procedimientos y normas que rigen dentro de las instalaciones. Pero lo más importante es que pude sentir la confianza entregada por todas estas personas para desempeñar las diferentes actividades desarrolladas durante el periodo de mi práctica.

Objetivos

Objetivo General

Cumplir con el objetivo de mejora continua y con los estándares tanto nacionales como internacionales en la aplicación de normas GMP además de proceder con el Plan de Calidad de Laboratorios Bayer S.A. lo que nos conduce a validar la metodología analítica de identificación y cuantificación de Aspirina[®] comprimido y Avelox[®] comprimido, lo que permitirá la utilización de estas metodologías en el Laboratorio de Control de Calidad de Bayer S.A.

Objetivos específicos para la calificación

- Recopilar la documentación pertinente a los Equipo HPLC Shimadzu
- Establecer un Protocolo de Calificación de los equipos HPLC Shimadzu (HPLC N° 2 y 3), que se encuentran actualmente emplazados y son utilizados por el Laboratorio de Control de Calidad.
- Verificar que los materiales e instrumentos a utilizar durante la calificación sean adecuados para este efecto. Instrumentos calibrados y los estándares certificados.
- Realizar la calificación operacional a los equipos HPLC.
- Realizar la calificación funcional de los equipos HPLC.
- Obtener resultados que permitan la calificación de los equipos HPLC N° 2 y 3

Objetivos específicos para la validación

- Contar con la documentación pertinente a los Métodos de Análisis a validar, tanto de Aspirina[®] 500mg comprimido y Avelox[®] 400mg comprimido.
- Establecer un Protocolo de Validación de las Metodologías Analíticas a validar (Aspirina[®] 500mg comprimido y Avelox[®] 400mg comprimido), por el Laboratorio de Control de Calidad.
- Verificar que los materiales a utilizar durante la validación sean adecuados para este efecto. Instrumentos se deben encontrar calibrados y los estándares a utilizar para la validación deben contar con sus respectivos certificados de análisis.
- Realizar la validación de las dos Metodologías Analíticas (Aspirina[®] comprimido y Avelox[®] comprimido).
- Obtener resultados adecuados que permitan la validación de las Metodologías Analíticas de Aspirina[®] comprimido y Avelox[®] comprimido.

Metodología:

Antes de realizar cualquier actividad referente a la validación del método de análisis se acordaron los puntos críticos a considerar (tanto como para la calificación como para la validación) con el Jefe de Control de Calidad, y en base a las normativas del Laboratorio como también a los POS existentes.

Para poder realizar la validación del Método de Análisis de Aspirina[®] comprimido y Avelox[®] comprimido, y teniendo en consideración de que se realiza por HPLC fue necesario, calificar previamente el equipo HPLC en donde se llevaron a cabo estas validaciones, es así como también se realizó la calificación de instalación (IQ), la calificación operacional (OQ) y la calificación de funcionamiento (PQ) de los equipos HPLC que se emplearon para las validaciones. Es por este motivo que se expondrán los dos temas en este trabajo, el de calificación de los equipos HPLC y seguido el de validación del método de análisis.

El tipo de Calificación fue una calificación de equipo en uso, debido a que se calificaron HPLC en funcionamiento.

Por otra parte, el tipo de validación que se realizó fue Concurrente, es decir se realizó durante el análisis de rutina de uno o varios lotes de Aspirina[®] 500mg comprimido o Avelox[®] 400mg comprimido.

Materiales y métodos para la Calificación

Descripción del área

El área en donde se encuentran los equipos HPLC es la Sala de Instrumental, que se encuentra dentro del Laboratorio de Control de Calidad.

El Laboratorio cuenta con acceso restringido y con temperatura controlada. Además esta sala cuenta con aire acondicionado independiente. La temperatura y la humedad del Laboratorio son monitoreadas y registradas periódicamente.

Requisitos previos a la Calificación

- Contar con los manuales de la Operación de los Equipos HPLC.
- Utilización de Instrumentos con certificados vigentes.
- Estándares con certificados de análisis vigentes.
- Utilización de reactivos apropiados (calidad HPLC).

Método utilizado para calificar los equipos HPLC

Para la calificación del los Equipo HPLC N° 2 y 3 se utilizó el anexo N°1 (Protocolo de Calificación HPLC). Este protocolo fue elaborado durante el periodo de práctica y describe el procedimiento a seguir para realizar la Calificación de los equipos HPLC Shimadzu con que cuenta el Laboratorio, esto, como parte de la validación y con el fin de verificar el funcionamiento del equipo HPLC.

En el Protocolo de Calificación, se describe el equipo, el tipo de calificación, el motivo de la calificación entre otros datos, y se encuentra aprobado por el Q.F. Jefe de Control de Calidad y por el Q.F. Responsable de Aseguramiento de Calidad del Laboratorio.

También se especifica en el Protocolo de Calificación los procedimientos para realizar la calificación de: Instalación, Operación y Funcionamiento del sistema HPLC. Además se encuentra el registro de los datos obtenidos. Estos registros fueron ingresados por escrito al Plan de Calificación y otros debieron ser recolectados de la información que entrega el equipo o los instrumentos utilizados.

Materiales y métodos para la Validación:

Requisitos previos a la Validación

- Contar con los protocolos de análisis de Aspirina[®] 500mg comprimido y de Avelox[®] comprimido.
- El equipo en donde se desarrollará la validación debe estar previamente calificado.
- Los Instrumentos deben contar con certificados vigentes.
- Estándares con certificados de análisis vigentes.
- Utilización de reactivos apropiados (calidad HPLC)

Métodos utilizados para la validación

Para dar inicio a la validación de las metodologías analíticas se establecieron los procedimientos a seguir durante la validación y se dispusieron las secuencias de inyecciones a realizar en el equipo.

Para la validación de la metodología analítica de Aspirina[®] 500mg comprimidos y de Avelox[®] comprimido, se aplicó la información entregada por la filial de Laboratorios Bayer S.A. (procedimiento 2.02.09 y 02.02-2 respectivamente, que se encuentran disponibles en el Laboratorio de Control a Calidad) y se tomaron en consideración como puntos críticos de las metodologías de análisis la cuantificación e identificación de los principios activos de los medicamentos a validar.

Protocolo para la Calificación de los HPLC

Para una mejor comprensión se revisará la calificación de un solo equipo HPLC debido a que los dos equipos son muy similares tanto en sus componentes como en su funcionamiento.

A continuación se muestra la información con que cuenta el Protocolo de Calificación. Todas las firmas se encuentran en los documentos originales (Protocolo de Calificación N° QCCE001-01 y el Protocolo de Calificación QCCE002-01). Estos documentos se encuentran en el Laboratorio de Control de Calidad).

I.- Alcance

Equipo / Modelo: Shimadzu / L10

N° de Serie: Varios módulos

Sector / Ubicación: Laboratorio de Control de Calidad / Sala de Instrumental

- **Tipo de Calificación:**

Calificación Equipo

Calificación Ambiente

- **Motivo de la Calificación:**

Calificación Programada

Recalificación

Observaciones: Se realizará la calificación del Equipo HPLC N° 2 en uso, con el objetivo de verificar que el equipo cumple con las especificaciones del fabricante por lo que es adecuado su uso para realizar análisis de metodologías en el laboratorio de Control de Calidad.

- **Plazo Previsto:**

Fecha de Comienzo Programada: 13 / 12 / 2005

Fecha de Finalización Programada: 16 / 12 / 2005

II.- Plan de Acción:

a) **Personal Involucrado:**

Redacción del Protocolo

(Nombre y Cargo): Álvaro Vásquez O. Alumno Q.F. en Práctica

Ejecución del Protocolo

(Nombre y Cargo): Álvaro Vásquez O. Alumno Q.F. en Práctica

Revisión y Aprobación del Protocolo:

Responsable Garantía de Calidad

Jefe Control de Calidad

PROCEDIMIENTO PARA LA CALIFICACIÓN DE LOS HPLC

PROCEDIMIENTO DE CALIFICACIÓN DE INSTALACIÓN

1 Ubicación del sistema

1.1 Objetivo

Registrar en la planilla los datos del lugar donde se instaló el sistema.

1.2 Procedimiento

Registrar los siguientes datos en la planilla:

- a Nombre de la empresa :
- b Filial :
- c Área :
- d Jefe de área :
- e Responsable de equipo :

2 Control ambiental del lugar de instalación

2.1 Objetivo

Evaluar si el lugar donde se encuentra instalado el equipo cumple con los requerimientos medioambientales e infraestructura indicados por el fabricante, lo que evalúa si el equipo funciona según las especificaciones descritas.

2.2 Procedimiento

- a Lugar de instalación adecuado (libre de polvo, gases corrosivos y grandes campos magnéticos)
- b Mesón adecuado (dimensiones y estabilidad)
- c T° adecuada (entre 5 y 35°C)
- d Humedad ambiente adecuada (entre 45 y 87%)
- e Puesta a tierra adecuada
- f Alimentación eléctrica adecuada (220V +-10%, 50 Hz)
- g Línea de tierra adecuada

3 Descripción del sistema

3.1 Objetivo

Describir las características del sistema HPLC

3.2 Procedimiento

- a Registrar el modo de operación y de mezclado del sistema HPLC
- b Identificar el sistema computacional, registrando las características de éste.
- c Identificar el software registrando nombre y versión.

4 Identificación de los módulos del sistema

4.1 Objetivo

Identificar los módulos del sistema

4.2 Procedimiento

- a Identificar cada módulo componente, registrando modelo y número de serie.

5 Registro de documentación

5.1 Objetivo

Describir y registrar la documentación recibida

5.2 Procedimiento

- a Registrar la documentación existente tal como manuales de operación y certificados de cumplimiento, así como el idioma y la ubicación de la misma.

6 Entrenamiento de los usuarios

6.1 Objetivo

Evaluar si los usuarios del HPLC tienen los conocimientos básicos de la operatoria del equipo

6.2 Procedimiento

Registrar si los usuarios conocen:

- a Rutina de encendido
- b Operación básica de módulos
- c Operación del sistema
- d Mantenimiento básico

7 Calificación de la instalación

7.1 Objetivo

Verificar que el sistema se ha instalado de manera adecuada

7.2 Procedimiento

- a Inspeccionar la apariencia externa del sistema y verificar que no presente signos de golpes, contaminación y otras anomalías.
- b Encender el sistema y verificar que no se presentan problemas de comunicación entre módulos, ni aparecen mensajes de error.

8 Control de cambios y mantenimiento del sistema

8.1 Objetivo

Mantener un registro de los cambios realizados al sistema

8.2 Procedimiento

Registrar cambios de módulo o de software del sistema.

PROCEDIMIENTO CALIFICACIÓN OPERACIONAL

1 Condiciones generales

1.1 Material requerido

- a Columna (ODS (C18) de 4.6mm DI y 25cm de largo u otra apropiada
- b Fase Móvil: ACN/agua 70:30 grado HPLC
- c Termómetro con indicación de máxima y mínima (con sensor remoto)
- d Cronómetro certificado

1.2 Temperatura ambiente.

Se recomienda que para realizar los ensayos la temperatura ambiente se encuentre entre 15 y 30°C y que la fluctuación de esta sea menor a 2°C/hora.

1.3 Preparación

- a Colocar agua como fase móvil en la bomba
- b Purgar el sistema

2 Configuración del sistema

2.1 *Objetivo*

Identificar los módulos del sistema HPLC

2.2 *Procedimiento*

Identificar cada módulo, registrando en la planilla el modelo y el número de serie correspondiente.

3 Calificación de Operación

3.1 *Objetivo*

Comprobar que el sistema opera normalmente

3.2 *Procedimiento*

A *Funcionamiento de los indicadores luminosos*

- a Encender los módulos y verificar si durante el autodiagnóstico encienden todos los indicadores luminosos de los mismos.

B Funcionamiento del controlador del sistema

- a Observar si durante el autodiagnóstico realizado anteriormente (punto A), el controlador del sistema arroja algún mensaje de falla en la memoria: [ROM Failure], [RAM Failure].
- b Ingresar mediante el teclado del controlador los siguientes valores para cada módulo del sistema:
 - Flow = 1.0 mL/min
 - Wave = 237 nm
 - Oven T° = 40°C
- c Activar el sistema y observar que los valores ingresados hayan sido transmitidos a los correspondientes módulos.
- d No deben aparecer mensajes de falla en la pantalla del controlador y los valores de los parámetros deben ser transmitidos satisfactoriamente a los correspondientes módulos.

C Exactitud del caudal

- a Fijar el caudal de la bomba A en 1,0 mL/min.
- b Pesar un matraz aforado vacío con tapa, en la balanza analítica calibrada.
- c Recoger en el matraz el volumen dispensado por la bomba en 3 min, midiendo el lapso de tiempo con un cronómetro certificado.
- d Pesar el matraz aforado. Calcular el caudal bombeado por minuto, dividiendo el peso obtenido por 3 y teniendo en cuenta la densidad del agua a la temperatura de la medición. (Ver tabla 1).
- e La diferencia entre el caudal obtenido y el fijado debe ser menor o igual que $\pm 0,030$ mL/min. ($\pm 3,0\%$).

D Exactitud y estabilidad de la temperatura del horno de columnas

- a Colocar el sensor del termómetro dentro del horno en la proximidad del sensor de temperatura del mismo.
- b Fijar la temperatura del horno a 50°C y activarlo.
- c Permitir que alcance la condición "Ready"
- d Presionar la tecla [VP] hasta visualizar [Validation] y luego la tecla [Func] hasta encontrar la función [Temperature Test].
- e Presionar la tecla [Enter] y permitir que se ejecute el programa.
- f Registrar el mensaje indicado por el instrumento.

- g Presionar la tecla [Enter], ingresar el valor de la temperatura indicada por el termómetro y presionar la tecla [Enter].
- h Los mensajes indicados por el instrumento deben ser : "Stability Good" y "Accuracy Good".

E Control de la longitud de onda y de la intensidad de la lámpara. Detector UV-Visible de longitud de onda variable.

- a Fijar la longitud de onda en 237 nm
- b Fijar el valor 1 para la función [Lamp].
- c Visualizar la función [REFEN] y registrar en la planilla el valor indicado.
- d Visualizar la función [WaveCheck] y presionar la tecla [Enter].
- e Registrar el mensaje entregado por el instrumento.
- f El mensaje debe ser : "Check Good"
La intensidad de la lámpara de Deuterio [REFEN] debe ser mayor a 800.

F Funcionamiento del inyector.

- a Para inyector automático solamente: presionar la tecla [VP] para entrar a las funciones de autocalibración y seleccionar "Validation". Presionar la tecla [Func] hasta localizar el chequeo de memoria.
- b Ejecutar el chequeo de memoria (ROM y RAM).
- c Ejecutar el chequeo de autodiagnóstico para los sensores de posición.
- d Registrar los mensajes obtenidos
- e Al finalizar el chequeo de autodiagnóstico de sensores de posición, deberá observarse el mensaje "CHECK GOOD".

PROCEDIMIENTO DE CALIFICACION DE FUNCIONAMIENTO

1 Condiciones Generales

1.1 Materiales Requeridos

- a Solución de calibración para equipos HPLC: (solución G) Mezcla de Nitrometano, Antraceno, Pireno y Perileno disueltos en metanol, provista por Bayer Leverkusen (Block D207).

1.2 Condiciones Ambientales

Se recomienda que para realizar los ensayos, la temperatura ambiente se encuentre entre 15 y 30°C y que la fluctuación sea menor a 2°C/hr

1.3 Configuración de los equipos HPLC

Número de equipo	HPLC N° 2	
Marca / Modelo	Shimadzu / LC10A - 10AVP	
Módulo	Modelo	Número de Serie
Bomba Isocratica	LC10 AT VP	C20973604094
Detector	SPD-10AV VP	C21003600695 LP
Modulo de Control	SCL-10A VP	C21014216556 LP
Desgasificador	DGU-14A	C20973604094
Sistema de Gradiente Cuaternaria	FCV-10AL VP	C21084104147
Autoinyector	SIL-10AD VP	C21054271145 US
Válvula Conmutadora de Columna	FCV-10AH	C20434101896
Option Box L		C20544001959
Horno Para Columna	CTO-10AS VP	C21044264138 SS
Computador		
Monitor	Compaq	235CP28KB625
Impresora	LASERJET 1100	USGB000398
Software	LC SOLUTION Version: 1,11SP1	L50574200191

Número de equipo	HPLC N° 3	
Marca / Modelo	Shimadzu / LC10 6A - T VP	
Módulo	Modelo	Número de Serie
BOMBA ISOCRÁTICA A	LC-10ATVP	C20973604109LP
BOMBA ISOCRÁTICA B	LC-10AS	C20312901346KG
DETECTOR	SPD-10A	C20332901493
MODULO DE CONTROL	SCL-10AVP	C21014216541LP
DESGASIFICADOR	DGU-12A	C20913602874TK
AUTOINYECTOR	SIL-10A	C2036367208KG
SAMPLER COOLER	SAMPLE COOLER S	C20472502885
ELU-SAVE		72.28.423
HORNO PARA COLUMNAS	CTO-10AVP	C21023601899 KL
COMPUTADOR	HP Compaq	MXJ452053M
MONITOR	DELL N°828FI	22794B190V69
IMPRESORA	HP LASERJET 1100	USBB004182
SOFTWARE	LC SOLUTION	L50574200216

2 Procedimiento

2.1 Objetivo

Definir criterios, frecuencia y controles que son necesarios realizar para demostrar el correcto funcionamiento de los equipos HPLC.

2.2 Frecuencia

Cada vez que sea necesario evaluar el funcionamiento del equipo.

2.3 Procedimiento

2.3.1 Los controles que se realizarán al equipo HPLC son pre-requisito para los análisis cuantitativos y cualitativos de rutina. A continuación se detallan los controles que se realizarán en este procedimiento:

2.3.2 Después de cada mantenimiento o trabajo de reparación de los equipos, proceder a realizar algunas pruebas para evaluar el estado final del equipo, según se señala a continuación:

2.3.3 En caso de realizarse otro tipo de reparación o cambio, consultar al Jefe de Laboratorio para coordinar las medidas a seguir.

2.3.4 Si alguna de las pruebas antes mencionada no cumple con las especificaciones, el sistema HPLC no debe ser usado para realizar análisis y se debe informar al Jefe de Laboratorio para tomar las medidas correctivas pertinentes.

2.3.5 *Sistema HPLC:*

Fase Móvil	: metanol HPLC
Columna	: Lichrospher 100 RP 18, 125 x 4mm, 5µm (la columna debe utilizarse solo para este análisis.
Longitud de onda	: 250nm
Temperatura	: 30°C
Volumen de inyección	: 10µL de solución de prueba G.
Solución de prueba G	: Mezcla de Nitrometano, Antraceno, Pireno y Perileno disueltos en metanol.

Las condiciones cromatográficas pueden modificarse de acuerdo a las posibilidades técnicas del equipo.

Cromatografiar y registrar 10 inyecciones de la misma solución G. Evaluar los siguientes parámetros: tiempos de retención, áreas de los picos y áreas relativas de los picos.

Estos procedimientos de Calificación fueron los que se utilizaron para los dos HPLC N°2 y N°3 que fueron calificados.

Requisitos que deben cumplir los Equipos HPLC:

- **Constancia de flujo a tiempo largo**: se determina a través del cálculo del Coeficiente de Variación (CV) de los tiempos de retención de los componentes de la mezcla, después de múltiples inyecciones. Ver fórmula en anexo adjunto.

Promedio de los 4 valores de CV :<0.5%

- **Constancia de flujo a tiempo corto**: es el CV de las áreas de porcentajes de áreas estandarizadas con múltiples inyecciones de la mezcla G. Ver fórmula en anexo adjunto.

Promedio de los 4 valores :< 1.5%

- **Exactitud de flujo**: Programar la velocidad del flujo de la bomba a 1.0 mL/min y dejar bombear 10 mL. Recibir en un matraz volumétrico el volumen de fase móvil a la salida del detector y medir con un cronometro el tiempo empleado en llegar a los 10mL. Calcular el % de desviación empleando la siguiente formula:

$$\% \text{Desviación} = \frac{|600 \times \text{seg} - \text{tiempo}(\text{seg}) \times 100|}{600 \times \text{seg}}$$

Limite: Desviación <10%

- **Reproducibilidad del Inyector**: La reproducibilidad debe ser calculada estadísticamente a partir de los CV de la reproducibilidad total y de la prueba de consistencia de flujo a tiempo corto. Ver fórmula en anexo adjunto.

Valor medio de 4 valores de CV<1.5%

- **Exactitud de longitud de onda**: Comparar la media de los valores de área estandarizadas de cada componente con la figura para la mezcla G. Calcular a partir de la fórmula señalada en el anexo adjunto.

Valor medio correspondiente a 4 diferencias absolutas < 4%.

- **Ruido de la señal base**: calculada a partir del software

Máxima diferencia AU: <5x10⁻⁴ Volts.

- **Reproducibilidad Total**: Las áreas de los picos dependen del volumen de inyección, longitud de onda e integración de los parámetros usados para la evaluación de la reproducibilidad total. Ver formula en anexo adjunto.

Valor medio de 4 valores CV:<2.0%

Protocolo para la validación de las metodologías analíticas

En esta sección se describirá la validación de Aspirina solamente, ya que las dos metodologías de análisis que se validaron, tienen mucho en común, además se expondrá así con el fin de simplificar la comprensión de la validación.

El Protocolo completo de Validación de ambas metodologías se encuentra en el Laboratorio de Control de Calidad (Protocolo de validación N°: VCCM001-01 Avelox y Protocolo de validación N°: VCCM002-01 Aspirina).

Las firmas se encuentran en los documentos originales.

Breve descripción del proceso a validar:

Se validará el método de análisis de contenido e impurezas de Aspirina 0.5g comprimido, el cual se basa en la cuantificación de Ácido Acetilsalicílico (AAS) y de Ácido Salicílico (AS), según el método de análisis 2.02-09.

Tipo de Validación:

Alcance:

- Validación de Proceso
- Validación de Método Analítico
- Re-Validación de Proceso
- Re-Validación de Método Analítico

Tipo:

- Concurrente
- Prospectiva
- Retrospectiva

Razón de la Validación:

Se realiza la siguiente validación con el fin de utilizar el método de análisis de Aspirina 2.02-09 en el Laboratorio de Control de Calidad, la principal característica de este método es el análisis de contenido, que se hace de manera anhidra, lo que permite una mayor flexibilidad en el manejo de las muestras.

Responsable de:

Redacción del Protocolo

(Nombre y Cargo): Álvaro Vásquez O. Alumno Q.F. en Práctica

Ejecución del Protocolo

(Nombre y Cargo): Álvaro Vásquez O. Alumno Q.F. en Práctica

Revisión y Aprobación del Protocolo:

Q.F. Responsable Garantía de Calidad

Q.F. Jefe Control de Calidad

Metodología

Análisis a Realizar

Metodología analítica

Análisis de Contenido:

Para la identificación y cuantificación del AAS la metodología es la siguiente:

Longitud de onda: xxxnm

Reactivos: Reactivo 1
 Agua
 Reactivo 2
 Reactivo 3
 Reactivo 4

Equipos: Cromatógrafo líquido de alta presión con registrador e integrador.
 Baño de ultrasonido.
 Columna metálica de acero.
 Largo xxcm., diámetro interno xxmm.
 Relleno con LiChrospher 100 RP xx.xum.

Solvente: Mezclar xx volúmenes de Reactivo 1 con x volumen de Reactivo 4.

Solución de comparación AAS (St A): Pesar con Exactitud alrededor de xx mg de AAS en un matraz de xx mL. Disolver y llevar a volumen con solvente.

Solución de comparación Ac. Salicílico (AS): Pesar con exactitud alrededor de xxmg de AS en un matraz de xxmL. Disolver y llevar a Volumen con solución St A. Diluir xxmL de la solución anterior a xxmL con solución St A.

Solución de prueba: Determinación de AS: Moler xx tabletas. Pesar con exactitud alrededor de xx mg en un matraz de xx mL.

Adicionar xx mL de solvente.

Llevar a volumen con solvente y filtrar por membrana.

Determinación de AAS: Diluir xx mL de la solución anterior a xx mL con solvente.

Alternativamente se pueden elegir otros pesos y diluciones, mientras bajo las condiciones utilizadas en la determinación HPLC se cumpla con las exigencias del test de aptitud del sistema en todos sus puntos.

Condiciones de análisis:

Condiciones HPLC: Las condiciones indicadas son orientativas y pueden ser adecuadas a las posibilidades técnicas del cromatógrafo y a las características de la columna para optimizar la separación.

Fase móvil: Disolver xx g de Reactivo 2 en xx mL de Agua. Adicionar xx mL de Reactivo 1 y ajustar el pH a $xx \pm 0.05$

Flujo: xx ml / minuto.

Temperatura del horno: xx ° C.

Detección: UV xxnm.

Vol. de inyección: xx µL.

Procedimientos de análisis:

Cromatografiar solución de prueba y comparación en las condiciones indicadas.

Los cromatogramas de solución de prueba y comparación deben coincidir en los tiempos de retención:

Ac. Salicílico = 8,0 min.

Ac. Acetil Salicílico = 10,9 min.

Criterios de Aceptación para la Validación

Pruebas de Adecuación visual del sistema: comparar cromatogramas de los estándares con los de las muestras.

Criterio de aceptación:

El tiempo de retención de las muestras debe encontrarse dentro de un $\pm 20\%$ en relación a los tiempos indicados en el método de análisis.

Todos los picos deben estar separados como se indica en el método de análisis.

Límite de Detección: Analizar un máximo de un 50% del límite de liberación de los productos de descomposición, inyectando un blanco previamente para eliminar el carry-over del sistema de inyección.

Criterio de aceptación:

Los picos deben ser detectables

Linealidad: Se deberá determinar con la preparación de soluciones estándar al 50%, 100% y 150% de la concentración de la sustancia activa, la función de calibración es obtenida por regresión lineal.

Criterio de aceptación:

Intercepto al eje no se debe desviar del origen más de un $\pm 3\%$

El coeficiente de correlación "r" debe ser al menos de $\geq 0,99$

Coefficiente de variación de los factores respuesta (CVf) $< 5\%$

Precisión: se encuentra determinada por 6 inyecciones de un mismo estándar al 100%. El coeficiente de variación es calculado según el pico principal.

Criterio de aceptación:

Coefficiente de Variación del estándar $\leq 1,5\%$

Coefficiente de Variación de la muestra $\leq 2,0\%$

Resultados y Discusión

Resultados y Discusión de la Calificación del HPLC N°2

REGISTRO DE CALIFICACION DE INSTALACION

1 Ubicación del sistema

Empresa : BAYER S.A.
Filial : Chile
Área o Sector : Laboratorio Control de Calidad
País / Ciudad : Chile / Santiago
Comuna : San Joaquín
Dirección : Carlos Fernández 260
Jefe de Control de Calidad : Gustavo Parra N.
Usuario del equipo : Analistas del laboratorio

2 Control ambiental del lugar de instalación

	Criterio de Aceptación	Corresponde	No Corresponde	No Aplica
Lugar de instalación adecuado	Libre de polvo y gases corrosivos	X		
Mesón adecuado	Dimensiones estabilidad	X		
Temp. ambiente adecuada	Entre 5 y 35°C; con dif. de T° < 2 °C/hr	X		
Humedad ambiente adecuada	Entre 45 y 87% HR	X		
Alimentación eléctrica	220V ± 10%, 50 Hz	X		
Puesta a tierra adecuada	Tensión entre neutro y tierra < a 5V	X		

3 Descripción del sistema

a Modo de operación

Isocrático	G. Binario	G. Ternario	G. Cuaternario
			X

b Modo de mezclado

Alta Presión	Baja Presión	No Aplica
	X	

4 Identificación de los módulos del sistema

Número de equipo	HPLC N° 2	
Marca / Modelo	Shimadzu / LC10A – 10 AT _{VP}	
Módulo	Modelo	Número de Serie
Bomba Isocrática	LC10 AT _{VP}	C20973604094
Detector	SPD-10AV _{VP}	C21003600695 LP
Modulo de Control	SCL-10A _{VP}	C21014216556 LP
Desgasificador	DGU-14A	C20973604094
Sistema de Gradiente Cuaternaria	FCV-10AL _{VP}	C21084104147
Autoinyector	SIL-10AD _{VP}	C21054271145 US
Válvula Conmutadora de Columna	FCV-10AH	C20434101896
Option Box L		C20544001959
Horno Para Columna	CTO-10AS _{VP}	C21044264138 SS
Computador		
Monitor	Compaq	235CP28KB625
Impresora	LASERJET 1100	USGB000398
Software	LC SOLUTION Version: 1,11SP1	L50574200191

5 Registro de documentación

Documentación Recibida	Idioma
LC-10AT _{VP}	Ingles
FCV-10 AL _{VP}	Ingles
DGU-14 A	Ingles
CTO-10AS _{VP}	Ingles
SIL-10 A	Ingles
SCL10 AVP	Ingles
SPD – 10 A _{VP} /10 AV _{VP}	Ingles
Drain Tube Kit	Ingles

6 Entrenamiento de los usuarios

	Criterio de Aceptación	Corresponde	No Corresponde	No Aplica
Rutina de encendido	Se Debe Conocer	X		
Operación básica de los módulos		X		
Operación del sistema		X		
Mantenimiento básico		X		
Recomendaciones de seguridad		X		

7 Calificación de instalación

	Criterio de Aceptación	Corresponde	No Corresponde	No Aplica
Signos de golpes, contaminación u otras anomalías	Inexistentes	X		
Conexión del cromatógrafo al suministro eléctrico	Adecuada	X		
Instalación de accesorios	Adecuada	X		
Encendido	Correcto	X		

REGISTRO DE CALIFICACION DE OPERACIÓN

1 Condiciones Generales

1.1 Fecha de iniciación

Fecha		
Día	Mes	Año
15	12	2005

1.2 Condiciones ambientales

T° Ambiente (°C)	H.R. %
21	51

2 Ubicación del sistema

Empresa : Bayer S.A. Chile
Sector : Laboratorio Control de Calidad / Sala de Instrumental
Responsable del sector : Gustavo Parra N.
Usuarios del equipo : Analistas del Laboratorios

3 Configuración del sistema

Numero de equipo	HPLC N° 2	
Marca / Modelo	Shimadzu / LC10A - 10AVP	
Módulo	Modelo	Número de Serie
Bomba Isocrática	LC10 AT VP	C20973604094
Detector	SPD-10AV VP	C21003600695 LP
Modulo de Control	SCL-10A VP	C21014216556 LP
Desgasificador	DGU-14A	C20973604094
Sistema de Gradiente Cuaternaria	FCV-10AL VP	C21084104147
Autoinyector	SIL-10AD VP	C21054271145 US
Válvula Conmutadora de Columna	FCV-10AH	C20434101896

Continuación:		
Módulo	Modelo	Número de Serie
Option Box L		C20544001959
Horno Para Columna	CTO-10AS VP	C21044264138 SS
Computador		
Monitor	Compaq	235CP28KB625
Impresora	LASERJET 1100	USGB000398
Software	LC SOLUTION Version: 1,11SP1	L50574200191

4 Calificación de operación

A Funcionamiento de los indicadores luminosos

MODULO	Corresponde	No Corresponde	No Aplica
Bomba A	X		
Bomba B			X
Inyector automático	X		
Detector	X		
Controlador del sistema	X		
Horno	X		

B Funcionamiento del controlador del Sistema

	Corresponde	No Corresponde	No Aplica
Mensajes de falla (ausencia)	X		
Transferencia de parámetros	X		

C *Exactitud del caudal*

Caudal medido: 2,995 mL/min

	Modelo	Nº de Serie
Cronómetro certificado utilizado	VWR 62379-460	51045344
Balanza analítica utilizada	LA 2305	16506808
Termómetro certificado utilizado	VWR 23609-206	51267748
Temperatura del agua y densidad	23 °C	0,997536 g/mL

D *Exactitud y estabilidad de la temperatura del horno de columna*

	Criterio de Aceptación	Corresponde	No Corresponde	No Aplica
Estabilidad	"Stability Good"	X		
Exactitud	"Accuracy Good"	X		

Termómetro certificado utilizado: Modelo: VWR 23609 – 206
Nº de Serie: 51267748

E *Control de la exactitud de longitud de onda y de la intensidad de la lámpara. Detector UV-Visible de longitud de onda variable.*

	Corresponde	No Corresponde	No Aplica
Mensaje	Check good		
Intensidad a 237nm	X		
[REFEN]: <u>807</u>	X		

F *Funcionamiento del inyector*

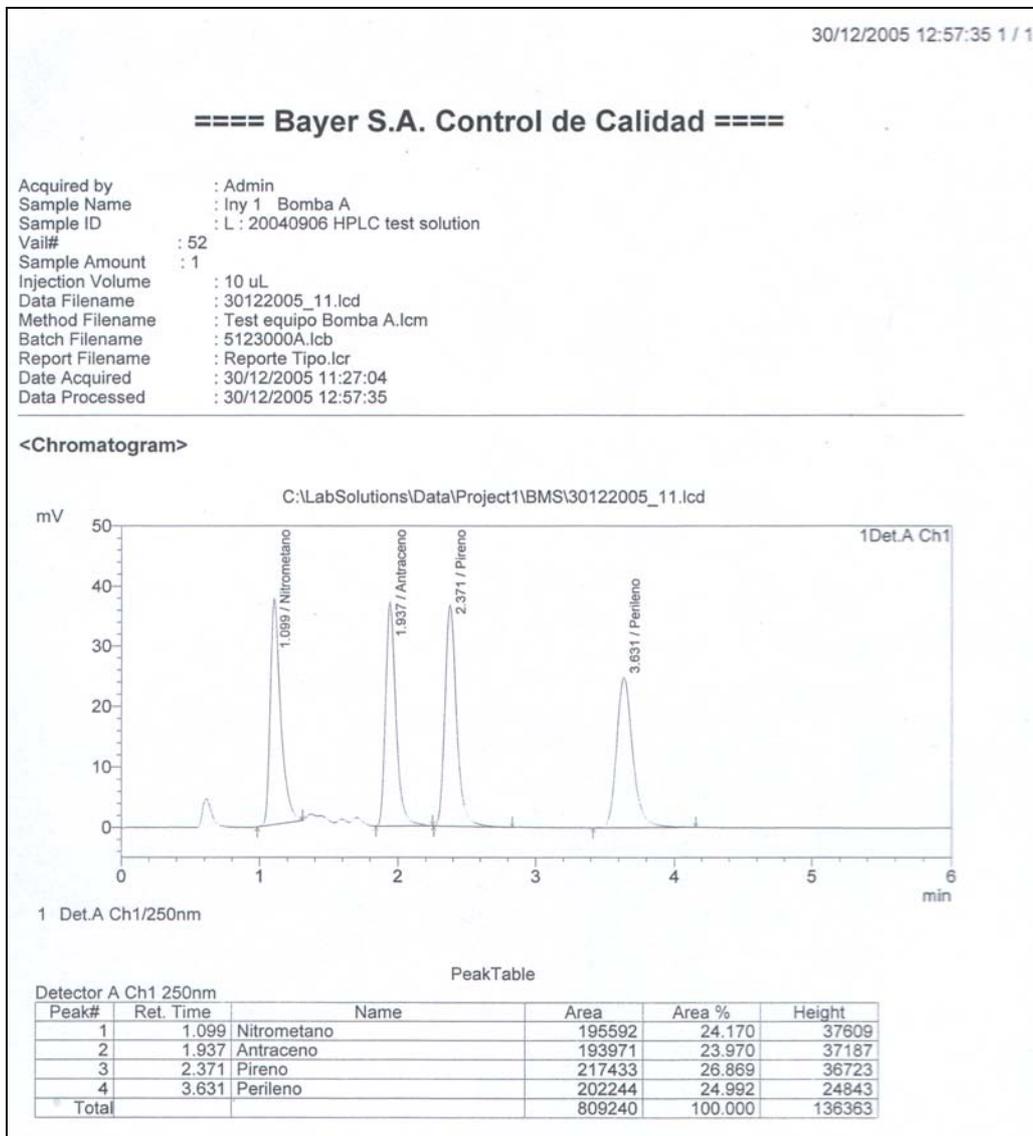
	Criterio de Aceptación	Corresponde	No Corresponde	No Aplica
Mensaje	CHECK GOOD	X		
indicador luminoso	Enciende	X		

REGISTRO DE FUNCIONAMIENTO

Corresponden a los resultados entregados por los equipos

Los registros obtenidos de la calificación de funcionamiento del equipo son los siguientes:

C1. Cromatograma de la primera inyección de la prueba del HPLC N° 3



C3. Resultados de la prueba del HPLC N° 3

HPLC equipment test									
equipment	HPLC N° 3				Analist:	Álvaro Vásquez Ortiz			
Pump	LC 10 AT vp N°3 Bomba A				Date:	30/12/2005			
Detector:	SPD 10A				Version:	1.0			
1) Nitromethan					2) Anthracen				
Sample Nr.	Retentiontime	Area	norm.Area-%		Retentiontime	Area	norm.Area-%		
1	1,099	195592	24,17		1,937	193971	23,97		
2	1,100	189505	23,45		1,938	195736	24,23		
3	1,100	189377	23,46		1,938	195278	24,20		
4	1,098	189253	23,47		1,936	194953	24,18		
5	1,101	196589	24,17		1,940	195108	23,99		
6	1,099	196728	24,16		1,938	195216	23,98		
7	1,100	189557	23,42		1,939	196172	24,24		
8	1,102	196424	24,11		1,941	195724	24,02		
9	1,098	188990	23,42		1,936	195529	24,23		
10	1,100	190007	23,38		1,939	197098	24,25		
Average	1,100	192202,2	23,72		1,938	195478,5	24,13		
Standarddev.	0,001	3576,619	0,372		0,002	818,395	0,122		
Coeff. of Var.	0,11	1,86	1,57		0,08	0,42	0,50		
3) Pyren					4) Perylen				
Proben Nr.	Retentiontime	Area	norm.Area-%		Retentiontime	Area	norm.Area-%		
1	2,371	217433	26,87		3,631	202244	24,99		
2	2,372	219234	27,13		3,634	203513	25,19		
3	2,372	218795	27,11		3,632	203646	25,23		
4	2,370	218736	27,13		3,633	203286	25,21		
5	2,374	218404	26,85		3,637	203304	24,99		
6	2,373	218599	26,85		3,636	203583	25,01		
7	2,374	219605	27,13		3,638	204050	25,21		
8	2,375	218890	26,86		3,639	203772	25,01		
9	2,371	218659	27,10		3,635	203636	25,24		
10	2,373	220330	27,11		3,636	205396	25,27		
Average	2,373	218868,5	27,01		3,635	203643	25,14		
Standarddev.	0,002	762,187	0,135		0,003	779,988	0,118		
Coeff. of Var.	0,07	0,35	0,50		0,07	0,38	0,47		
Area normalization					Injection reproducibility				
	Nitromethan	Anthracen	Pyren	Perylen		Nitromethan	Anthracen	Pyren	Perylen
Average	23,723	24,127	27,014	25,135		0,06	0,00	0,01	0,00
Standarddev.	0,44	0,10	0,09	0,10		0,24	0,07	0,10	0,07
Coeff. of Var.	1,86	0,42	0,35	0,38		1,00	0,28	0,36	0,27
Summary of the results									
			results	accept limits				Wave length accuracy	
1: Total system reproducibility			0,75	2	complies		%Area certified	Average Area%	Difference
2: Long time flow constancy			0,08	0,5	complies	Nitromethan	24,20	23,72	0,48
3: short time flow constancy			0,76	1,5	complies	Anthracen	24,40	24,13	0,27
4: Injection reproducibility			0,48	1,5	complies	Pyren	26,40	27,01	0,61
5: Detector noise (in 10 ⁻⁵ AU)			10	50	complies	Perylen	25,10	25,14	0,04
6: Flow accuracy			10	10,0 rel-%					
7: Wave length accuracy			0,35	4	complies				

Conclusiones de la calificación

Los resultados obtenidos de la calificación de instalación de los equipos cumplen con los parámetros establecidos.

Los resultados obtenidos por la calificación operacional cumplen.

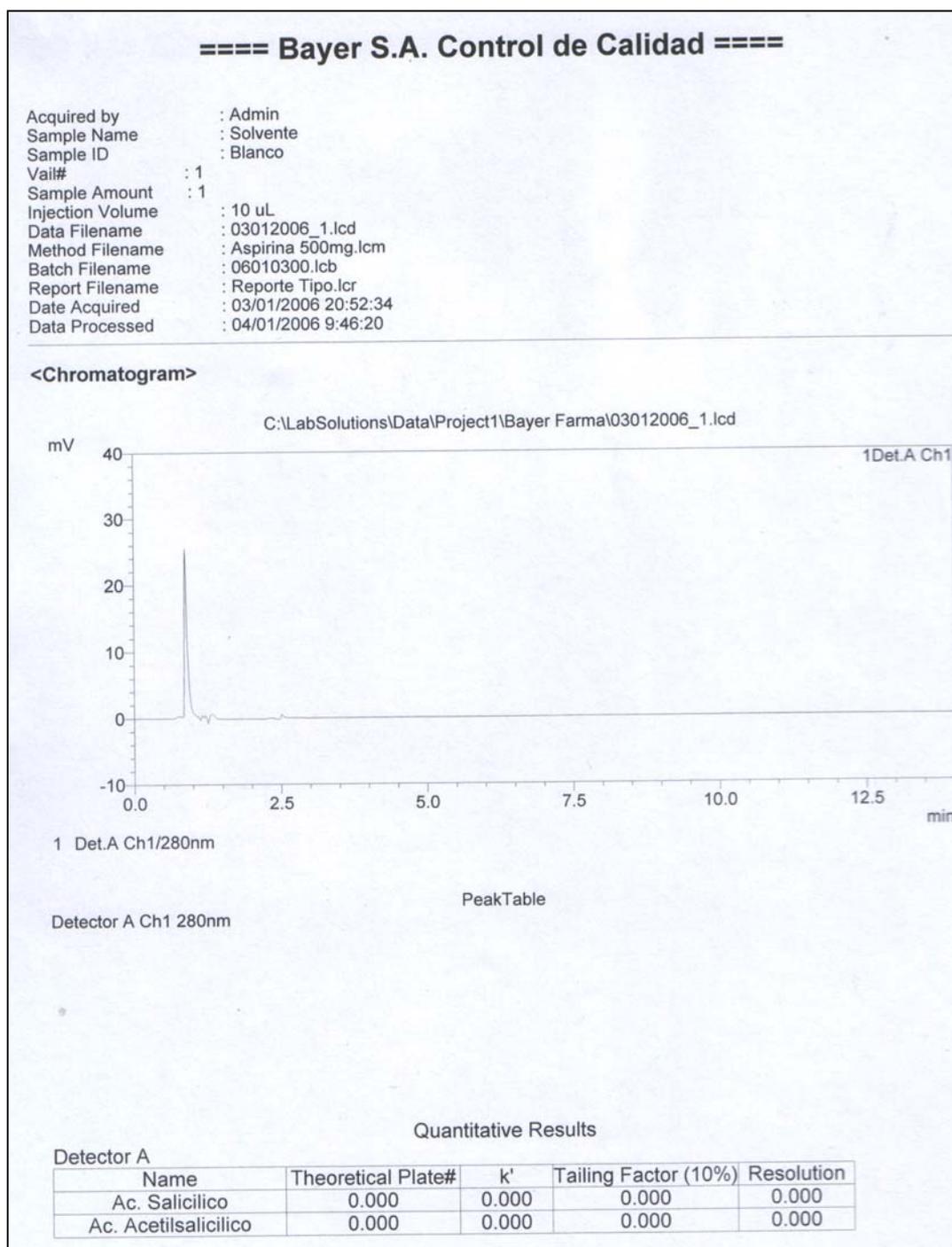
Los resultados obtenidos por la calificación de funcionamiento cumplen.

Se tienen registros de todos los pasos realizados durante el proceso de calificación, y de los certificados de los instrumentos y materiales utilizados.

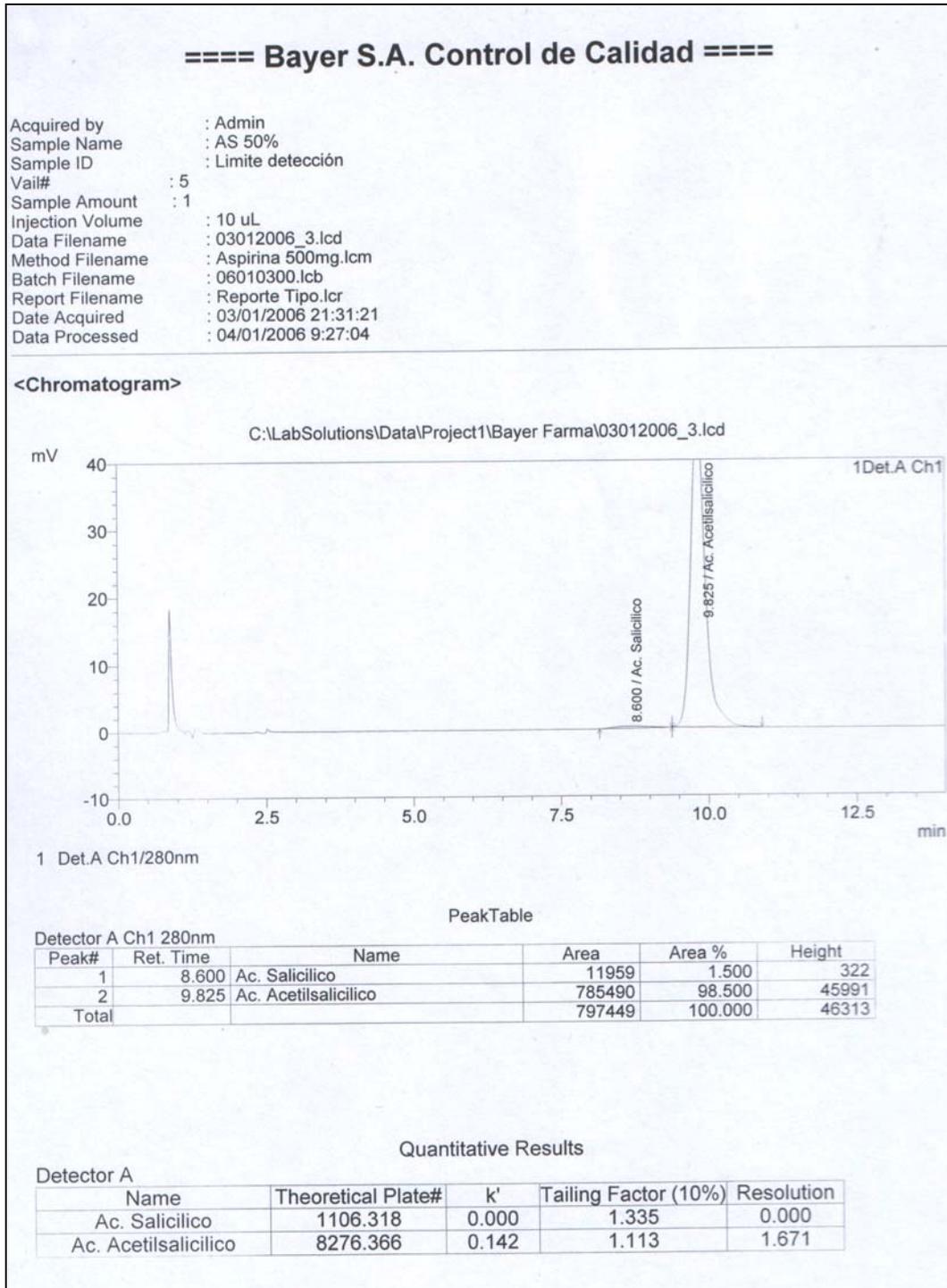
Por lo tanto y en vista de toda la documentación y registros obtenidos podemos concluir que el equipo se encuentra apto para realizar validaciones y analisis.

Resultados de la validación:

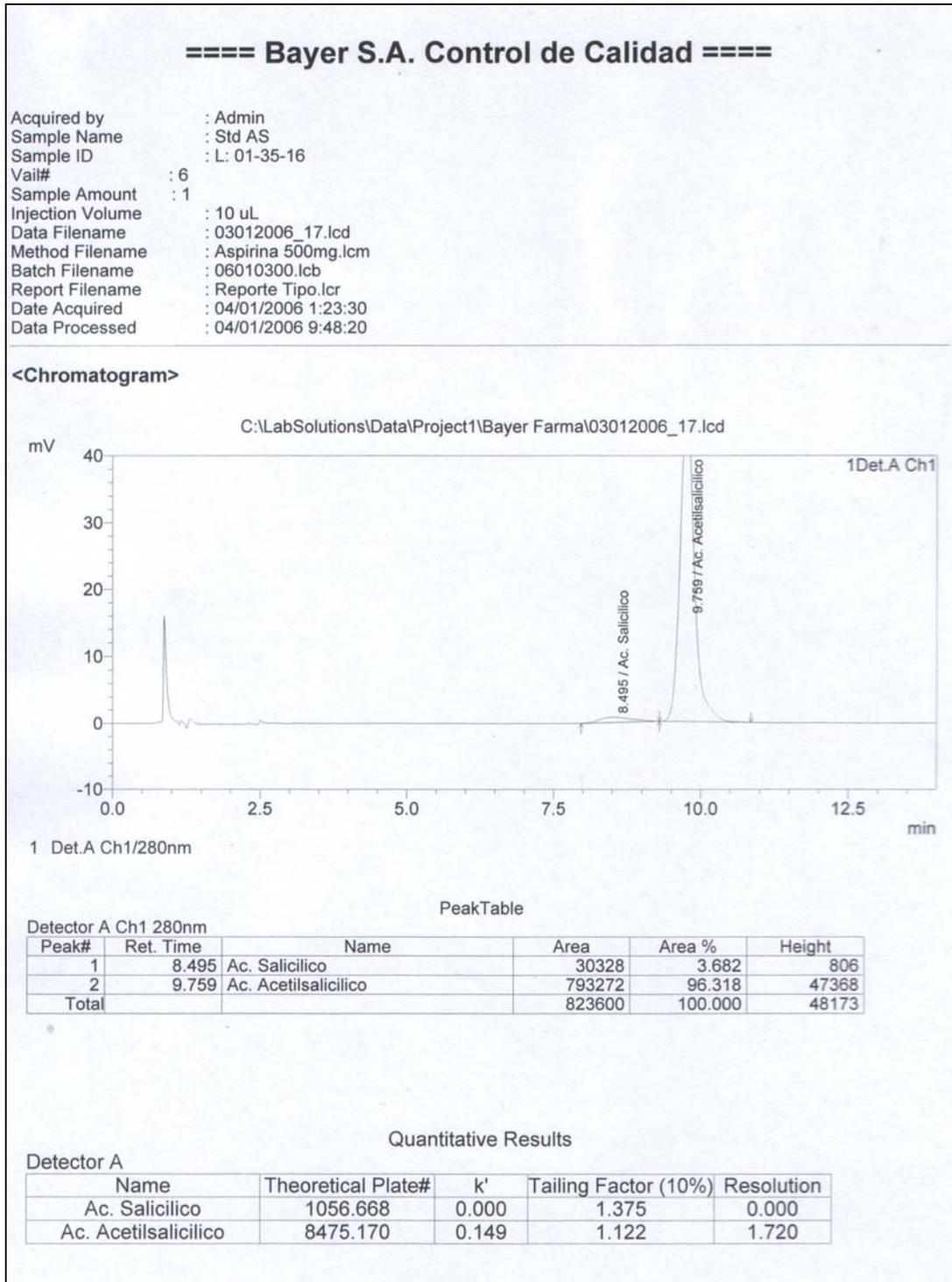
C4. Cromatograma del Blanco



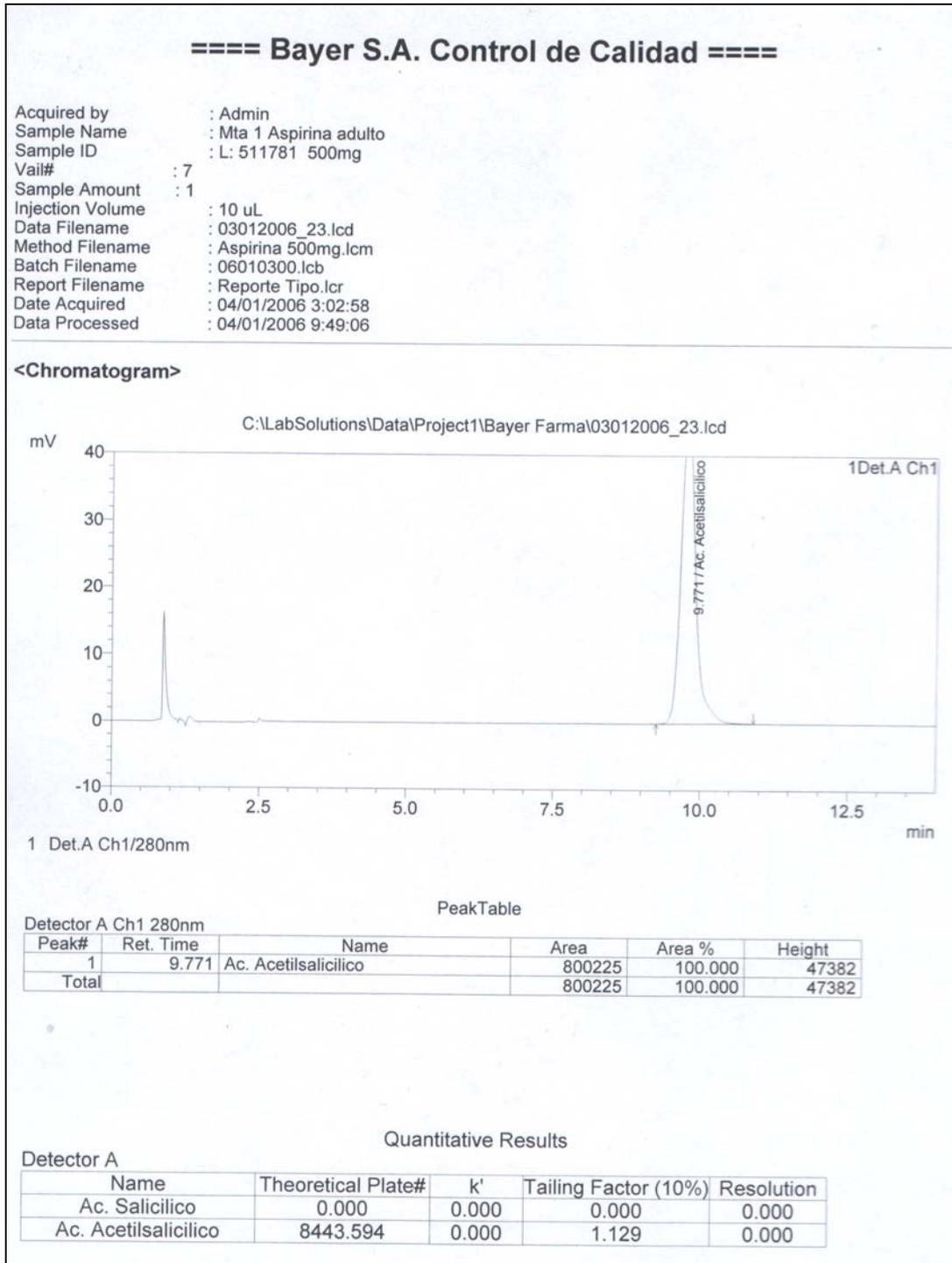
C5. Cromatograma Límite de cuantificación:



C6. Cromatograma estándar



C7. Cromatograma muestra:



Discusión de la validación de aspirina

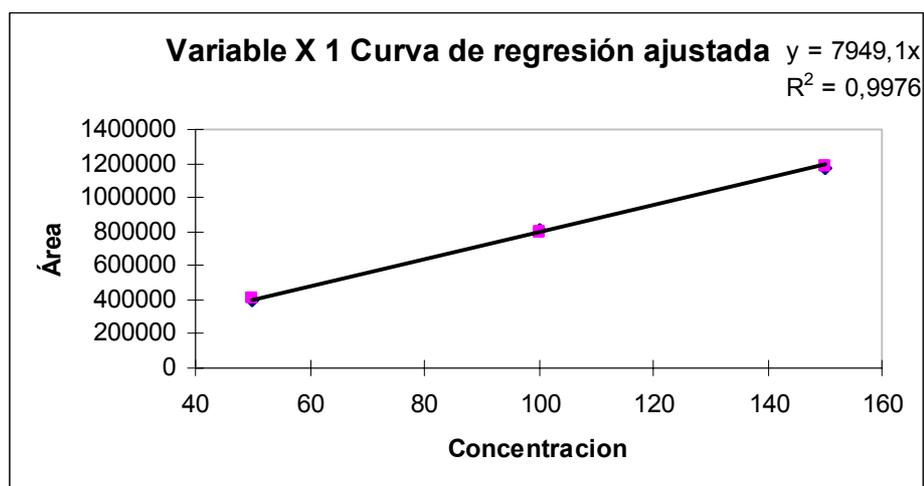
Límite de Detección: como se puede apreciar en el cromatograma "C4" la cantidad de Ácido Salicílico es detectada por el sistema.

Prueba de adecuación visual del sistema: al comparar los cromatogramas obtenidos con los presentados en el método de análisis se puede apreciar su correspondencia.

Linealidad:

Curva de calibración para Ácido acetilsalicílico en Aspirina®

% Conc. Std	Área
50	395396
50	395632
50	392979
100	808743
100	806288
100	807244
100	811475
100	812737
100	807244
150	1177011
150	1172210
150	1174468



<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coefficiente de correlación múltiple	0,999000406
Coefficiente de determinación R ²	0,998001811
R ² ajustado	0,997801992
Error típico	13515,55488
Observaciones	12

**ANÁLISIS DE
VARIANZA**

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1	9,12352E+11	9,12352E+11	4994,53	7,84596E-15
Residuos	10	1826702237	182670223,7		
Total	11	9,14179E+11			

Factor de respuesta:

Concentración mg/mL	Respuesta	Factor de respuesta
0,254	395396	1556677,2
0,254	395632	1557606,3
0,254	392979	1547161,4
0,518	808743	1561279,9
0,518	806288	1556540,5
0,518	807244	1558386,1
0,518	811475	1566554,1
0,518	812737	1568990,3
0,518	807244	1558386,1
0,758	1177011	1552785,0
0,758	1172210	1546451,2
0,758	1174468	1549430,1
	promedio	1556687,3
	desviación std	7005,6
	CV% factor de respuesta	0,450

Precisión:

Precisión del estándar		
Muestra	Área	
1	793272	
2	795384	
3	797403	
4	795704	
5	797334	
6	801623	
Promedio:	796787	
C.V.:	0,35	Máximo 1,5%

Precisión de la muestra		
Muestra	Área	
1	800225	
2	786916	
3	798947	
4	814435	
5	796516	
6	796444	
Promedio:	798914	
C.V.:	1,12	Máximo 2,0%

Cumple con los criterios de aceptación de la precisión tanto como para la muestra como para el estándar.

Conclusiones de la Validación

Tras la realización de las calificaciones y una vez habiendo obtenido los resultados se puede concluir que la metodología analítica empleada por la filial de Laboratorios Bayer S.A. es perfectamente aplicable al Laboratorio de Control de Calidad. Además esta nueva metodología (Aspirina 500mg), permitirá realizar el análisis sin el apremio del tiempo por ser anhidra (descomposición rápida de la muestra en agua) y permite optimizar el tiempo ya que permite una libertad mayor al analista, (agregar un lote al análisis, reanalizar las muestras, “tirar” una secuencia completa nuevamente, etc.)

Por lo tanto se establece que:

Los equipos cumplen con las calificaciones a las que fueron sometidos.

El método de análisis de Aspirina[®] 500mg es factible de aplicar en el Laboratorio de Control de Calidad de BayService.

Este método se aplicará en adelante para analizar muestras de AAS 500mg que requieran de identificación y de cuantificación.

Conclusión General

Este trabajo permitió la calificación de equipos HPLC y la posterior Validación de las metodologías analíticas de Aspirina® 500mg y Avelox® 400mg.

Todos los resultados obtenidos en la validación de los métodos de análisis tanto de Aspirina® 500mg como de Avelox® 400mg permiten asegurar que son confiables, ya que cumplen los criterios de validación establecidos por Bayer S.A. Además ambos métodos pueden ser utilizados en el Laboratorio de Control de la Calidad en sus análisis de rutina.

Conclusión Personal

El mundo cambia constantemente y en muchos aspectos cambia muy rápido por lo que es nuestro deber de profesionales preocupados por la salud de la población como el de personas comunes, el mantenernos constantemente actualizados e interiorizados de las modificaciones que se van suscitando en las áreas que nos competen. La vida es una constante capacitación y debemos estar abiertos a los cambios que puedan venir, tratando de tomarlos eficientemente con el fin de poderlos aplicar en nuestra vida, creando y/o optimizando y/o mejorando continuamente los procesos que realizamos a diario, para poder entregar lo mejor de cada uno por el bienestar general.

Bibliografía

1. OMS "Colaboremos por la salud", informe sobre la salud del mundo, OMS 2006.
2. Robert J. Cipolle, Linda M. Strand, Meter C. Morley "El Ejercicio de la Atención Farmacéutica". McGRAW-HILL Interamericana 1ª ed 1998.
3. Pharmakon año 2000 "Historia, desarrollo y puesta en marcha de las buenas prácticas de Manufactura" QF Edith Ramírez Cox.
4. González-Martín, G. "Fundamentos de Farmacia Clínica y Atención Farmacéutica". Ediciones Universidad Católica de Chile, 1ª ed. 2004.
5. Bayer AG "Manual del Sistema de Calidad Sección: Buenas Prácticas de Manufactura (GMP) Introducción" 1ª ed 2005.
6. Oscar Alberto Quattrocchi, Sara Inés Abelaria de Andrizzi, Raúl Felipe Laba, "Introducción a la HPLC Aplicación y Práctica". Artes Gráficas y Farro S.A. 1992.
7. Arlene M. Badillo "Validación de Procesos" Diplomado de Buenas Practicas de Manufactura 2005.
8. Rosalía Alzate de Saldarriaga "Protocolo de Validación" Diplomado de Buenas Practicas de Manufactura 2005.
9. Protocolo de Calificación Q CC E 002-01: Referencia la calificación del HPLC N°2, instrumento que se encuentra calificado para este efecto.
10. OT 34/03 "Prueba de adecuación del sistema en cromatografía líquida de alta resolución".
11. OT 29/02 "Estructura de la secuencia en rutina de análisis HPLC y medidas a seguir en caso de desviaciones".
12. Serie de Informes Técnicos de la OMS, Comité de expertos de la OMS en especificaciones para las preparaciones Farmacéuticas, Informe 32, 1992.
13. Reglamento del Sistema Nacional de Control de Productos Farmacéuticos. Dto. N°1876 de 1995.

Vínculos de interés:

14. <http://pharmacos.eudra.org/>
15. <http://www.fda.gov/opacom/laws/fdact/fdctoc.htm>
16. <http://www.fda.gov/>
17. <http://www.access.gpo.gov/nara/cfr/cfr-table-search.html>

Anexo 1

Glosario

Aseguramiento de Calidad: Es un amplio rango de conceptos que cubren todas las actividades que individual o colectivamente influyen en la calidad de un producto. La suma total de las actividades llevadas a cabo para asegurar que los productos medicinales y dispositivos médicos de uso humano y animal son de la calidad requerida para lo que fueron destinados.

Buenas Prácticas de Manufactura: Estándares mínimos para los métodos que van a ser usados y las instalaciones o controles que van a ser usados, la manufactura, el proceso, el empaque o el mantenimiento de un producto medicinal para asegurar que dicha droga satisface los requerimientos de la ley en materia de seguridad y tiene la identidad y la concentración y cumple con su calidad y pureza propuestas o que referencian poseer.

Calibración: Es el conjunto de operaciones que establecen, bajo condiciones específicas, la relación entre los valores indicados por el instrumento o sistema de medición (especialmente de peso), registro y control, o los valores representados por la medida de un material y su valor conocido correspondiente a un estándar de referencia. Los límites de aceptación de los resultados de las mediciones deben estar establecidos.

Calificación: Es el proceso de establecimiento de evidencia documentada de la que las instalaciones, los sistemas utilitarios y otros equipamientos técnicos incluidos los sistemas computarizados han sido correctamente encargados y que funcionan en forma confiable, dentro del rango especificado de operación.

Control de Calidad: Es una parte de las GMP que conciernen al muestreo, especificaciones y análisis y con la organización, documentación y procedimientos de liberación que aseguran que los análisis que se están llevando a cabo son necesarios y relevantes y que los materiales no son liberados para su uso, tampoco para la venta o suministro antes de que la calidad sea juzgada como satisfactoria. El control de calidad no está confinado a las operaciones de laboratorio, pero debe estar involucrado en todas las decisiones concernientes a la calidad del producto.

Criterio de Aceptación: Las especificaciones que son utilizadas para tomar una decisión para aceptar o rechazar un lote o batch de producto o aceptar una pieza de equipamiento que ha sido calificada.

Crítico: Un material, etapa de proceso o condición del proceso, requerimiento para análisis u otro parámetro relevante se considera crítico cuando no existen no conformidades con un criterio predeterminado que influya directamente sobre los atributos de calidad de un API o producto con droga de una manera perjudicial.

Especificación: Descripción detallada de la calidad o de los atributos críticos que debe cumplir un material.

Especificidad de un test analítico: Es la habilidad para calcular inequívocamente un analito en presencia de otros componentes que se espera que esté presente. Típicamente podrían incluirse las impurezas, estereoisómeros, productos de degradación, matriz, etc.

La escasez de la especificidad de un procedimiento analítico individual puede ser compensada por otros procedimientos analíticos que lo soporten. Esta definición implica lo siguiente:

- Identificación: para asegurar la identidad del analito
- Análisis de pureza: para asegurar que todos los procedimientos analíticos que se llevan a cabo permiten una exacta declaración del contenido de impureza de un analito, por ej. Análisis de sustancias relacionadas, metales pesados, contenido de solventes residuales, etc.
- Valoración: (contenido o potencia): proveer un resultado exacto que permite una declaración exacta del contenido o potencia de un analito en la muestra.

Exactitud: La exactitud de un procedimiento analítico expresa lo más cercano a un acuerdo entre el valor que es aceptado no como un valor verdadero convencional o un valor de referencia aceptado y el valor encontrado.

Límite de cuantificación: Es la cantidad más pequeña de analito en una muestra que puede ser determinado en forma cuantitativa con precisión y exactitud. Este límite es un parámetro del ensayo cuantitativo para bajos niveles de compuestos en muestras matrices y es usado particularmente para la determinación de impurezas y/o productos de degradación.

Límite de detección: Es La cantidad mínima de de analito en una muestra que puede ser detectado pero no necesariamente cuantificado como un valor exacto.

Linealidad: La linealidad de un procedimiento analítico es su capacidad (dentro de un rango dado) para obtener resultados de análisis que son directamente proporcionales a la concentración (cantidad) de un analito en la muestra.

Procedimiento Operativo Estándar (POS): Procedimiento escrito autorizado que da las instrucciones para llevar a cabo operaciones no necesariamente específicas de un producto dado, material o procedimiento pero de una naturaleza más bien general.

Repetibilidad: Expresa la precisión bajo las mismas condiciones de operación a través de un corto intervalo de tiempo. También significa una precisión entre ensayos.

Estándar de referencia Primario: Una sustancia que ha sido reconocida por un conjunto extensivos de análisis, para ser un autentico material de alta pureza. Este estándar puede ser obtenido a través de una fuente reconocida o preparado por medio de una síntesis independiente o por una purificación sucesiva de un material existente de producción.

Estándar de referencia Secundario: Sustancia de pureza y calidad establecida que ha sido comparada con un estándar de referencia primario, es utilizada como estándar de referencia para análisis de rutina en el laboratorio.

Validación: Acción documentada que demuestra que cualquier procedimiento, proceso o actividad conducirá consistentemente a los resultados esperados. Esto incluye la calificación de sistemas y equipamiento.