

### Guía de validación de métodos microbiológicos alternativos

La validación para la aplicación de los métodos microbiológicos alternativos (MMA) incluye la **validación primaria** y la **validación destinada al uso** previsto.

El proveedor de la tecnología realiza la validación primaria donde se incluye en forma detallada la caracterización del principio de detección, mediante el uso de un panel adecuado y extenso de microorganismos. Además, en esta etapa de la validación deben estar correctamente caracterizadas las condiciones requeridas para su aplicación y la señal de respuesta esperada. Dependiendo el tipo de metodología (métodos cualitativos o cuantitativos) debe incluir la evaluación de atributos de validación críticos como especificidad, límites de detección y/o cuantificación, rango, linealidad, exactitud, precisión y robustez. El usuario deberá realizar una evaluación exhaustiva de dicha validación primaria.

La validación destinada al uso es realizada por el usuario y verifica la idoneidad del método. Previo a la realización de esta validación se debe realizar un **análisis de riesgo** asociado a la implementación de la metodología. Además, se debe confeccionar el documento conocido como **especificaciones de requerimiento de usuario** (URS, por sus siglas en inglés). El URS determina los requerimientos técnicos específicos necesarios para el MMA y es esencial para la selección de la tecnología apropiada. El documento incluye las funciones de la tecnología; el propósito; las responsabilidades y el uso previsto; requerimientos operacionales, ambientales e informáticos; el alcance y limitaciones; el ciclo de vida, capacidad y sustentabilidad, entre otros. En la generación del documento se consideran tres aspectos fundamentales de la validación del método:

1. Calificación del equipo: involucra los parámetros que se detallan a continuación:

**Calificación de diseño (DQ):** Se demuestra y documenta que el diseño del equipo cumpla con las buenas prácticas de fabricación y define las especificaciones funcionales y operacionales para el uso propuesto. Se evalúa generalmente antes de la obtención del equipo y puede ser realizado tanto por el proveedor como el usuario final, siendo este último el responsable de la verificación.

**Calificación de instalación (IQ):** Se corrobora que la instalación del equipo en el lugar de uso sea correcta y cumpla con especificaciones de ingeniería. Es muy importante verificar que la DQ se mantenga. La IQ incluye la descripción del sistema, instrucciones de funcionamiento y uso, requerimientos de calibración, exigencias de mantenimiento e instalación de software.

**Calificación de operación (OQ):** Normalmente se realiza después de la IQ, pero también se puede realizar una calificación de instalación y operación (IOQ) conjunta. En la OQ se demuestra que el equipo funciona correctamente en el entorno seleccionado y se verifica que el sistema opera bajo límites operacionales predeterminados. Es posible que no sea necesario repetir las pruebas a intervalos regulares, salvo que el equipo se someta a reparaciones o modificaciones importantes o se traslade a otra ubicación. La conclusión satisfactoria de esta calificación deberá permitir la finalización y aprobación de los procedimientos operativos estándares.

**Calificación de desempeño (PQ):** consiste en demostrar que el equipo posee un desempeño correspondiente con las especificaciones definidas por el usuario y apropiado para el uso previsto. Se evalúa la aptitud en condiciones reales de uso. Deberá incluir la planificación de la verificación de rendimiento, de mantenimiento preventivo, de calibración y de control de cambios.

2. Validación de la tecnología alternativa: debe demostrarse en términos estadísticos, que el MMA es equivalente o superior al método compendiado, en cuanto al desempeño para el uso destinado (ver atributos de validación).
3. Aptitud del método: debe considerarse la aptitud de la tecnología, la falta de inhibición del producto y la mejora de los resultados. Debe quedar demostrado que el nuevo método es compatible con los productos. Debe evaluarse que las matrices no interfieren con la señal o resultado detectado, dado que, de lo contrario, pueden obtenerse falsos positivos o falsos negativos.

La determinación de los **atributos de validación**, que se mencionan a continuación, debe realizarse considerando la clasificación del MMA, teniendo en cuenta si es un método cualitativo o cuantitativo:

**Especificidad:** Capacidad de un método para evaluar inequívocamente al microorganismo de interés en presencia de los componentes que pueden estar presentes, tales como componentes de la matriz, la solución diluyente, etc. Para métodos cuantitativos es la capacidad de cuantificar sólo el microorganismo diana, mientras que para métodos cualitativos se refiere a la capacidad de detectarlos, por ejemplo, los viables. En ambos casos no deben generarse falsos positivos asegurando que el sistema no genera interferencias. Se determina usando un panel apropiado de microorganismos; siendo relevante para esta prueba el uso de mezclas de microorganismos.

**Exactitud:** Proximidad de los resultados obtenidos por el método alternativo y el resultado obtenido por el método compendiado, en términos de significancia estadística. Se debe demostrar a lo largo de todo el rango de trabajo y se expresa generalmente como porcentaje de recuperación (método alternativo/método compendiado).

**Precisión:** Grado de concordancia entre los resultados del ensayo individual cuando el método se aplica repetidamente a muestras de suspensiones homogéneas de microorganismos bajo condiciones prescriptas. La precisión puede ser considerada en tres niveles:

-Repetibilidad: Expresa la precisión bajo las mismas condiciones operativas (incluyendo el analista), en un intervalo de tiempo corto.

-Precisión intermedia: Expresa las variaciones intralaboratorio: diferentes días, diferentes analistas, diferentes equipos.

-Reproducibilidad: Expresa la precisión entre laboratorios (estudios colaborativos).

Generalmente, la precisión se expresa como desvío estándar o coeficiente de variación (CV%). El CV% de un método alternativo debe ser inferior o comparable al compendiado; en

este sentido, el intervalo de confianza del método nuevo debe estar comprendido en el intervalo de confianza del método tradicional.

**Límite de detección:** Nivel más bajo de microorganismos que puede detectarse, pero no necesariamente cuantificarse, en una muestra bajo las condiciones experimentales establecidas. Refiere a la cantidad de microorganismos presente en la muestra original antes de hacer algún paso de dilución o incubación. Es crítico que este límite no sea superior al del método compendiado.

**Límite de cuantificación:** Es el nivel o número más bajo de células o UFC en una muestra que puede ser cuantificado con una determinada precisión y exactitud. Los resultados de linealidad y exactitud pueden ser usados para definir este parámetro. Este tampoco debe ser mayor que el del método compendiado.

**Linealidad:** Capacidad de un método de producir resultados proporcionales al nivel de microorganismos presentes en una muestra dentro de un intervalo dado. Esto se comprueba por el análisis de regresión lineal.

**Rango:** Intervalo entre nivel superior e inferior de microorganismos que se pueden determinar con precisión, exactitud y linealidad. Se aplica a métodos cuantitativos.

**Robustez:** Capacidad del método de mantenerse inalterado frente variaciones pequeñas deliberadas de ciertos parámetros. Provee un indicio de su confiabilidad en el uso cotidiano del método.

**Equivalencia:** Grado de similitud entre los resultados del método alternativo y el método compendiado (tradicional). Se requiere que los dos métodos se ejecuten inicialmente en paralelo, incluso utilizando cultivos estandarizados (cultivos puros o mezclas de cultivos), para demostrar que se cumplen los criterios de validación previamente discutidos.



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional  
Las Malvinas son argentinas

**Hoja Adicional de Firmas**  
**Informe gráfico firma conjunta**

**Número:**

**Referencia:** Anexo IV - Disposición de Control Microbiológico de Productos Farmacéuticos

---

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 3 pagina/s.