MINISTERIO DE SANIDAD Y CONSUMO

**BUENAS PRACTICAS DE
LABORATORIO EN EL ANÁLISIS
DE NIVELES DE FÁRMACOS Y SUS
METABOLITOS EN ESPECÍMENES
BIOLÓGICOS**

DOCUMENTO Nº 5

1ª Versión

Noviembre 2001

AGENCIA ESPAÑOLA DEL MEDICAMENTO

SUMARIO

1.- Introducción.

2.- Aspectos referidos al estudio.

2.1. Protocolo.

2.2. Obtención, envío, recepción y almacenamiento de los especímenes.

2.3. Aparatos.

2.4. Método de análisis y su validación.

2.5. Proceso de Análisis: Controles de calidad y repetición de muestras.

2.6. Registro y archivo de datos primarios.

2.7 Informe final.

3.- Bibliografía.

Glosario de términos.

1.- INTRODUCCIÓN.

En diversos tipos de estudios se utiliza el análisis de niveles de sustancias activas en especímenes biológicos para su cuantificación. En estos estudios se encuentran, entre otros, los siguientes:

- Toxicocinética.
- Farmacocinética en estudios preclínicos.
- Farmacocinética en estudios clínicos.
- Estudios de bioequivalencia.
- Niveles de residuos.

La Agencia Europea del Medicamento en su guía Note for guidance on the investigation of bioavailability and bioequivalence. London, 26 July 2001, establece que la parte bioanalítica de estudios clínicos de bioequivalencia debe de ser realizada de acuerdo con los principios de Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL).

Este documento tiene por objeto dar una serie de recomendaciones a aquellos laboratorios que soliciten la certificación de cumplimiento de buenas prácticas de laboratorio para estudios de análisis de niveles de fármacos y sus metabolitos en especímenes biológicos.

En esta guía sólo se hará un desarrollo expreso de aquellos apartados de las buenas prácticas de laboratorio que requieran un tratamiento específico para dichos tipos de estudios, mientras que el resto de los apartados de las buenas prácticas de laboratorio tales como: organización, personal, garantía de calidad, instalaciones, reactivos, sustancias de ensayo y de referencia, procedimientos normalizados de trabajo (PNT), etc., deberán cumplir las exigencias indicadas en los principios BPL.

2.- ASPECTOS REFERIDOS AL ESTUDIO.

2.1. Protocolo.

Como en todo estudio a realizar bajo normas BPL, es necesario que exista un protocolo, que debe seguir los criterios establecidos en los principios de BPL en

aquellos aspectos que le sean de aplicación en función del tipo de estudio que se realice.

Debido a que los estudios de farmacocinética y bioequivalencia son normalmente estudios repetitivos, el protocolo podría realizarse mediante un documento estándar, que se completará en cada estudio con los datos específicos del mismo y la referencia de los procedimientos normalizados de trabajo aplicables en cada caso.

2.2. Obtención, envío, recepción y almacenamiento de los especímenes.

Deberán existir procedimientos normalizados de trabajo y registros adecuados para las actividades especificadas en el enunciado de este apartado. Como mínimo se deberá disponer de PNT para las siguientes actividades:

- Obtención de especímenes.
- Sistema de identificación del espécimen, que deberá incluir: código del estudio, identificación del individuo o animal del cual procede el espécimen, tipo de espécimen y si procede tratamiento, tiempo cinético y día de su obtención.
- Instrucciones de envío en el caso de especímenes de procedencia externa.
- Condiciones de recepción de los especímenes.
- Condiciones de almacenamiento y custodia de las muestras.

2.3. Aparatos.

Los aparatos utilizados en estos estudios deberán ser controlados siguiendo los criterios establecidos en las buenas prácticas de laboratorio, es decir, el laboratorio tendrá que disponer de los correspondientes PNT y registros de uso, mantenimiento y calibración, así como realizar dichas operaciones de acuerdo con estos procedimientos. Entre estos equipos se tendrán que incluir los frigoríficos y congeladores utilizados para la conservación de los especímenes.

2.4. Método de análisis y su validación.

El método de análisis podría presentarse de forma detallada en el protocolo del estudio, o bien de forma resumida, en cuyo caso deberá completarse con la referencia a los correspondientes PNT del laboratorio o documentos a utilizar.

El método de análisis utilizado en estos estudios deberá de estar validado en las condiciones de trabajo del laboratorio donde se lleva a cabo el análisis del espécimen, así como para cada sustancia y matriz biológica. El informe de validación deberá incluir como mínimo los siguientes parámetros:

- Especificidad/selectividad.
- Precisión.
- Exactitud.
- Linealidad.
- Limite de cuantificación.
- Estabilidad de las soluciones patrón y de la sustancia a analizar en la matriz biológica bajo las condiciones de análisis y durante todo el periodo de almacenamiento, incluidos los procesos de congelación y descongelación que pueda sufrir el espécimen.

Cada laboratorio deberá establecer mediante PNT, la metodología y criterios de aceptación de los parámetros de validación.

Existe la posibilidad de realizar una validación en paralelo al análisis de los especímenes de un determinado estudio; en todo caso el laboratorio deberá de haber validado el método de análisis previamente a la realización del informe final del estudio en que se haya utilizado dicho método.

2.5. Proceso de análisis: controles de calidad y repetición de muestras.

Deberán existir como mínimo PNT para:

- Preparación de muestras.
- Preparación de controles de calidad y su uso en la aceptación o rechazo de las series analíticas, incluyendo el número de controles a utilizar y su posición en dichas series.

- Descripción del procesado de las series analíticas.
- Causas y criterios de repetición de las muestras.

2.6. Registro y archivo de datos primarios.

En el caso de los cromatogramas, el laboratorio deberá disponer de un PNT que defina el sistema, que cumpliendo BPL, asegure el registro y archivo de estos datos primarios.

2.7. Informe final.

El informe final tendrá que contener los puntos establecidos en las normas BPL. En todo caso sería posible no incluir el apartado de conclusiones si el estudio se limitara a la presentación de los resultados sin incluir la interpretación farmacocinética de los mismos.

3.- BIBLIOGRAFÍA.

- Comisión de las Comunidades Europeas. Validación de métodos analíticos (Doc III/5626/94).
- ICH: International Conference on Harmonisation process Validation of Analytical Procedures 1994.
- ICH: CPMP/ICH/281/95.
- ICH: CPMP/ICH/381/95.
- EN-ISO 8402, 1995. Vocabulario Gestión de Calidad y Aseguramiento de la Calidad.
- FDA: Bioanalytical Method Validation. Guidance for Industry. U.S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. May 2001.
- EMA: Note for guidance on the investigation of bioavailability and bioequivalence. The European Agency for Evaluation of Medicinal Products. Evaluation of Medicines for Human Use. London, 26 July 2001.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Especificidad/Selectividad: Capacidad de un método bioanalítico de medir y diferenciar las sustancias en presencia de componentes que pueda esperarse que estén presentes. Ello puede incluir metabolitos, impurezas o componentes de la matriz.

Exactitud: Grado de concordancia entre el resultado de una medición (valor medio) y el valor de referencia aceptado (patrón de uso interno o patrón internacional).

Intervalo/Rango: Zona comprendida entre los niveles inferior y superior (ambos inclusive) para la cual se ha demostrado que el procedimiento es adecuado por lo que respecta a su precisión, exactitud y linealidad, empleando el método descrito.

Limite de cuantificación: La menor concentración de una sustancia en una muestra que puede determinarse cuantitativamente en las condiciones experimentales descritas, con exactitud y precisión definidas.

Limite de detección: La menor concentración de una sustancia que el método bioanalítico puede diferenciar de una manera fiable del ruido de fondo.

Linealidad: Denominada normalmente curva patrón o curva de calibración. La linealidad de un método o procedimiento de ensayo es su capacidad para obtener (dentro de un cierto intervalo) resultados que son directamente proporcionales a la concentración en la muestra de la sustancia que se pretende analizar.

Matriz biológica: Material biológico que puede muestrearse y procesarse de forma reproducible. Ejemplos: sangre, suero, plasma, orina, heces, saliva, esputos, tejidos, etc.

Método o procedimiento de ensayo: Conjunto de todos los procedimientos involucrados en la obtención, tratamiento, almacenamiento y análisis de muestras (especímenes) biológicas para la determinación cuantitativa de una sustancia en una matriz biológica determinada.

Precisión: Grado de concordancia (o de dispersión) entre resultados de medidas obtenidas de tomas múltiples a partir de la misma muestra y en las condiciones establecidas. La precisión puede ser subdividida en precisión intradía o intraensayo y precisión interdía o interensayo.

Repetibilidad: Precisión de los resultados de una medición obtenidos con el mismo método y bajo las mismas condiciones (laboratorios, analistas, días, diferentes equipos de medida, etc.).

Reproducibilidad: Precisión de los resultados de una medición obtenidos con el mismo método, pero bajo condiciones diferentes (laboratorios, analistas, días, equipos de medida, etc.).

Sensibilidad: Capacidad del método de ensayo para registrar ligeras variaciones de la concentración.

Validación: Confirmación mediante el examen y la obtención de evidencias objetivas de que se han cumplido los requisitos particulares para una utilización específica prevista.

Validación de un método o procedimiento de ensayo: Confirmación mediante estudios sistemáticos de laboratorio, que las características técnicas de un método o procedimiento de ensayo, cumplen las especificaciones relativas al uso previsto.