



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MÉXICO**



FACULTAD DE CIENCIAS

**“Rol de un biotecnólogo en una empresa farmacéutica
Memoria por experiencia profesional en Landsteiner
Scientific S.A. de C.V.”**

MEMORIAS DE EXPERIENCIA LABORAL

**QUE PARA OBTENER TÍTULO DE:
LICENCIADO EN BIOTECNOLOGÍA**

PRESENTA:

JESÚS ALEJANDRO ESCALONA VALDEZ

DIRECTOR DE TESIS

DRA. CARLA GARCÍA MORALES

ASESOR ADJUNTO

M. EN C. SARAHI GAMARRA MORALES

TOLUCA, MÉXICO 2021

DEDICATORIAS

AGRADECIMIENTOS

Índice

Glosario	6
Abreviaturas.....	11
Índice de tablas	13
Índice de Figuras	14
1. Presentación.....	15
2. Resumen.....	16
Abstract.....	17
3. Importancia de la temática.....	18
4. Descripción del puesto o empleo.....	20
4.1 Denominación del puesto	20
4.2 Justificación del puesto.....	20
4.3 Descripción del puesto de Auxiliar de Biotecnología.....	20
4.4 Descripción del puesto de Analista de Desarrollo Analítico B	20
4.5 Entorno del puesto	21
5. Problemática identificada.....	22
6. Objetivos y Justificación	25
6.1 Objetivo General.....	25
6.2 Objetivos Específicos.....	25
6.3 Justificación	25
7. Informe Detallado de las actividades.....	27
7.1 Marco Institucional	27
7.2 Misión	28
7.3 Visión	29
7.4 Objetivo	29
7.5 Organigrama y funciones	29
7.6 Funciones del Departamento de Nuevos Desarrollos.....	31
7.6.1 Funciones del Departamento de Biotecnología	31
7.7 Descripción de la Experiencia Laboral.....	32
7.7.1 Experiencia Laboral previa (Prácticas Profesionales)	32
7.7.2 Descripción de funciones	34
7.8.2.1 Apoyo en la elaboración y verificación de protocolos de biocomparabilidad para productos de línea (con registro obtenido) o nuevos desarrollos (registro por obtener)	34

7.8.2.2	Apoyo en la calificación de equipos y validación de sistemas computarizados	61
7.8.2.3	Apoyo en liberación de materia prima y producto terminado	85
8.	Solución Desarrollada y sus alcances	101
9.	Impacto de experiencia Laboral: Discusión y conclusión	102
10.	Referencias bibliográficas	107

Glosario

Administración de Alimentos y Medicamentos: Agencia del gobierno de los Estados Unidos de América responsable de la regulación de alimentos (tanto para personas como para animales), medicamentos (humanos y veterinarios), cosméticos, aparatos médicos (humanos y animales), productos biológicos y derivados sanguíneos.

Agencia Europea de Medicamentos: Agencia de la Unión Europea descentralizada que se encarga de la evaluación de las solicitudes de autorización de comercialización de medicamentos en la Unión Europea y su supervisión.

Analito: Componente (elemento, compuesto o ion) de interés analítico de una muestra. Son especies químicas cuya presencia o concentración se desea conocer, es decir, se puede determinar su cantidad y concentración en un proceso de medición química, constituye un tipo particular de mensurando en la metrología química.

Biocomparable: Fármaco de origen biotecnológico, actualmente proteínas recombinantes producidas de acuerdo a exigencias específicas establecidas por entidades regulatorias, en lo que se refiere a calidad, seguridad y eficacia, demostrando ser comparables al medicamento de referencia, una vez que la patente ha expirado.

Biofármaco: Toda sustancia que haya sido producida por biotecnología molecular, que tenga actividad farmacológica, que se identifique por sus propiedades físicas, químicas y biológicas y que reúna las condiciones para ser empleada como principio activo de un medicamento biotecnológico.

Calificación de desempeño: Proceso de demostrar que un equipo se desempeña consistentemente de acuerdo a una especificación apropiada para su uso rutinario. Estableciendo confianza en que el proceso es efectivo y reproducible.

Calificación de diseño: Define las especificaciones funcionales y operativas del equipo, detallando las decisiones de la selección del proveedor. Incluye los requerimientos de usuario, especificaciones funcionales, así como todos los procedimientos antes de la instalación del sistema en el entorno seleccionado.

Calificación de instalación: Cubre todos los procedimientos relacionados con la instalación del equipo en el entorno seleccionado. Establece que el equipo se recibe según lo diseñado y especificado, que está instalado correctamente en el entorno seleccionado y que este entorno es adecuado para la operación y el uso del mismo.

Calificación de operación: Proceso de demostrar que un equipo funcionará de acuerdo a sus especificaciones operativas en el entorno seleccionado.

Calificación del equipo: Proceso general para garantizar que un equipo sea apropiado para su uso previsto y que funcione correctamente de acuerdo a las especificaciones del proveedor. Conduciendo a resultados precisos y confiables, incluyendo IQ, calibración, DQ y PQ.

Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios: Dependencia federal (órgano descentralizado) del gobierno de México, vinculada con el Departamento de Regulación y Fomento Sanitario de la Secretaría de Salud, en lo relativo al control y vigilancia de los establecimientos de salud, entre otros.

Controles en proceso: Acciones que se toman en el proceso de fabricación cuyo objetivo es corregir desviaciones surgidas en las variables del proceso respecto a las especificaciones (valores determinados), que se consideran óptimos para conseguir las propiedades requeridas en el producto producido.

Equipo: Conjunto de instrumentos analíticos de medición, que junto con firmware, se ensamblan para realizar un proceso mecánico. Dispositivo que realiza un proceso para producir un resultado. En un sistema computarizado, el equipo es controlado por el sistema informático. La computadora recopila datos de medición del equipo.

Especificación funcional: Encargada de definir los requisitos generales del equipo, incluida la especificación operativa y otros factores críticos relacionados con su uso (por ejemplo, nivel de capacitación / experiencia requerida por los operadores).

Estudios de bioequivalencia: Principal herramienta considerada para demostrar de manera reducida, que un medicamento genérico cumple con las mismas características de calidad,

seguridad y eficacia que un medicamento de referencia, considerando importante la intercambiabilidad de un medicamento por otro.

Farmacocinética: Estudio de los procesos que se activan en el organismo en presencia de un fármaco. El acrónimo encontrado en cualquier manual sobre farmacocinética es ADME: Absorción: forma en la que el fármaco penetra en el organismo; Distribución: localización del fármaco en el organismo; Metabolismo: forma en la que organismo modifica químicamente el fármaco; Excreción: forma en la que organismo elimina el fármaco.

Farmacodinámica o farmacodinamia: Estudio del efecto de un fármaco en el organismo. Un fármaco puede actuar de dos formas en el organismo; puede cambiar las condiciones del organismo o puede interactuar con determinadas partes del organismo en el nivel celular o subcelular.

Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos: Documento expedido por la Secretaría de Salud que consigna los métodos generales de análisis y los requisitos sobre identidad, pureza y calidad de los fármacos, aditivos, medicamentos, productos biológicos y biotecnológicos

Glicosilación o glucosilación: Proceso por el cual las proteínas se unen covalentemente a oligosacáridos. Tiene lugar en el retículo endoplásmico y en el aparato de Golgi.

Hemoderivados: Productos obtenidos de algunos componentes sanguíneos, especialmente de plasma, mediante procesos fisicoquímicos o biológicos, para aplicación terapéutica, diagnóstica, preventiva o en investigación.

Ingrediente activo: Cualquier componente de un producto farmacológico destinado a proporcionar actividad farmacológica u otro efecto directo en el diagnóstico, cura, mitigación, tratamiento o prevención de enfermedades, o para afectar la estructura o función del cuerpo de humanos u animales.

Intercambiabilidad: Práctica médica que consiste en cambiar un medicamento por otro que se espera que obtenga el mismo efecto clínico en un determinado cuadro clínico y en cualquier paciente por iniciativa —o con el consentimiento— del médico que la prescribe.

Medicamento biotecnológico biocomparable: Medicamento biotecnológico no innovador que demuestre ser biocomparable en términos de seguridad, calidad y eficacia al medicamento biotecnológico de referencia a través de las pruebas que establezca la Ley General de Salud, el Reglamento de Insumos para la Salud y demás disposiciones aplicables.

Medicamento biotecnológico innovador: Medicamento biotecnológico que obtenga el registro sanitario en México, así reconocido por la Secretaría.

Medicamento biotecnológico: Toda sustancia que haya sido producida por biotecnología molecular, que tenga efecto terapéutico, preventivo o rehabilitatorio, que se presente en forma farmacéutica y que se identifique como tal por su actividad farmacológica y propiedades físicas, químicas y biológicas.

Medicamento de referencia: También conocido como medicamento innovador, son aquellos desarrollados, aprobados e introducidos en el mercado por primera vez, protegidos por una patente y que demuestran seguridad, eficacia y calidad.

Medicamento genérico: La especialidad farmacéutica con el mismo fármaco o sustancia activa y forma farmacéutica, con igual concentración o potencia, que utiliza la misma vía de administración y que mediante las pruebas reglamentarias requeridas, ha comprobado que sus especificaciones farmacopeicas, perfiles de disolución o su biodisponibilidad u otros parámetros, según sea el caso, son equivalentes a las del medicamento de referencia.

Método ortogonal: Método adicional que proporciona una selectividad diferente al método primario. Se puede utilizar para evaluar el método primario, es decir, son dos métodos con enfoques diferentes utilizados para medir el mismo valor, provocando que la medición sea confiable.

Norma Oficial Mexicana: Regulaciones técnicas de observancia obligatoria expedidas por las dependencias competentes, que tienen como finalidad establecer las características que deben reunir los procesos o servicios cuando estos puedan constituir un riesgo para la seguridad de las personas o dañar la salud humana; así como aquellas relativas a terminología y las que se refieran a su cumplimiento y aplicación.

Producto biológico: Productos obtenidos de microorganismos, virus o bacterias; secreciones, órganos, tejidos o células, ya sean animales o humanos, utilizados con fines preventivos, terapéuticos, rehabilitatorios o de diagnóstico.

Producto farmacológico: Forma de dosificación terminada, por ejemplo, una tableta, cápsula o solución que contiene un ingrediente farmacéutico activo, generalmente, pero no necesariamente, en asociación con ingredientes inactivos.

Registro electrónico: Conjunto de información que incluye datos electrónicos (texto, numérico, gráfico) que es creado, modificado, mantenido, archivado, restaurado o transmitido a través de un sistema computarizado.

Sistema computarizado: Sistema que tiene una computadora como parte principal e integral. El sistema depende del software de la computadora para funcionar.

Sustancia Farmacológica: Ingrediente cuya finalidad es ejercer una acción farmacológica u otro efecto directo en el diagnóstico, la cura, la mitigación o la prevención de una enfermedad, o bien afectar cualquier función del cuerpo. Junto con otros ingredientes (excipientes), y que, cuando se usa en la producción de un medicamento, se convierte en un ingrediente activo del medicamento. Sinónimos: Ingrediente Farmacéutico Activo.

Trazabilidad: Propiedad de un resultado de una medición mediante la cual se puede relacionar con estándares apropiados, generalmente estándares nacionales o internacionales, a través de una cadena ininterrumpida de comparaciones.

Validación: Proceso de evaluar el desempeño de un procedimiento de medición específico y verificar que el desempeño cumpla con ciertos criterios preestablecidos. La validación establece y proporciona evidencia documentada de que el procedimiento de medición es adecuado para un propósito particular. Término ocupado para métodos, procesos y softwares.

Abreviaturas

ACC: Atributos Críticos de Calidad

API: Principio Activo Farmacéutico

BCA: Ácido bicinconínico

BPD: Buenas Practicas de Documentación

BPF: Buenas Practicas de Fabricación

BPL: Buenas Practicas de Laboratorio

CD: Calificación de Desempeño

CD: Calificación de Diseño

CE: Calificación del Equipo

CHMP: Comité de Medicamentos de Uso Humano de la EMA

CTD: Documento Técnico Común

CI: Calificación de Instalación

COFEPRIS: Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios

EMA: Agencia Europea de Medicamentos

FDA: Administración de Alimentos y Medicamentos

FEUM: Farmacopea de os estados Unidos Mexicanos

HPLC: Cromatografía líquida de alta eficacia

MP: Materia Prima

NOM: Norma Oficial Mexicana

PCP: Parámetros Críticos del Proceso

PD: Farmacodinámica

pI: pH isoelectric

pI: Punto isoelectrico

PK: Farmacocinética

PNO: Procedimiento Normalizado de Operación

PT: Producto Terminado

SDS-PAGE: Electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato sódico

UPLC: Cromatografía líquida de ultra alta resolución

WB: Western Blot o Western Blotting

Índice de tablas

TABLA 1. EJEMPLOS DE MEDICAMENTOS BIOTECNOLÓGICOS	37
TABLA 2. DIFERENCIAS ENTRE MEDICAMENTOS TRADICIONALES Y BIOTECNOLÓGICOS	38
TABLA 3. GUÍA PARA LA AUTORIZACIÓN DE MEDICAMENTOS BIOSIMILARES POR LA AGENCIA EUROPEA DE MEDICAMENTOS (EMA)	40
TABLA 4. GUÍAS ESTABLECIDAS POR LA EMA PARA LA AUTORIZACIÓN DE BIOCOMPARABLES	42
TABLA 5. NORMAS OFICIALES MEXICANAS Y LEYES QUE REGULAN A LOS BIOFÁRMACOS	45
TABLA 6. ANTECEDENTES TÉCNICOS DE FABRICACIÓN	54
TABLA 7. ATRIBUTOS CRÍTICOS DE CALIDAD PROPUESTOS PARA INSULINA GLARGINA	56
TABLA 8. MODO DE FALLA Y ANÁLISIS DE EFECTOS (AMEF) DEL SISTEMA COMPUTARIZADO 32 KARAT [®] / PA 800 PLUS	74
TABLA 9. ESPECIFICACIONES FUNCIONALES DEL SISTEMA COMPUTARIZADO 32 KARAT [®] / PA 800 PLUS [®]	82

Índice de Figuras

FIGURA 1 NOMBRE Y LOGO DE LA EMPRESA LANSTEINER SCIENTIFIC.	28
FIGURA 2 INICIO PÁGINA WEB DE LA EMPRESA LANDSTEINER SCIENTIFIC.	28
FIGURA 3 ORGANIGRAMA DE LANDSTEINER SCIENTIFIC.	30
FIGURA 4. PROCESO DE FABRICACIÓN DE MEDICAMENTOS BIOTECNOLÓGICOS.	36
FIGURA 5 PESOS MOLECULARES DE DIFERENTES PRODUCTOS BIOTECNOLÓGICOS Y QUÍMICOS.	38
FIGURA 6 TRIANGULO DEL DOCUMENTO COMÚN TÉCNICO (CTD POR SUS SIGLAS EN INGLÉS).	43
FIGURA 7 INFORMACIÓN TÉCNICA QUE DEBE CONTENER EL CTD.....	48
FIGURA 8. INFORMACIÓN TÉCNICA QUE DEBE CONTENER EL CTD PARA BIOCOPARABLES.....	49
FIGURA 9 VÍA DE DESARROLLO DE LOS BIOCOPARABLES FRENTE A LOS INNOVADORES.....	50
FIGURA 10 ESTRUCTURA DE INSULINA GLARGINA.	53
FIGURA 11 ETAPAS DE CALIFICACIÓN DE UN EQUIPO.	63
FIGURA 12 RELACIÓN DE LAS 4 FASES DE CALIFICACIÓN DE UN EQUIPO.	64
FIGURA 13 ESQUEMA DE ALCOA+.....	68
FIGURA 14 METODOLOGÍAS DE EVALUACIÓN DE RIESGOS PARA LA VALIDACIÓN DE SISTEMAS COMPUTARIZADOS.	70
FIGURA 15 ESQUEMA GENERAL DE LA ELECTROFORESIS SDS-PAGE.	87
FIGURA 16 ELECTROFORESIS SDS-PAGE EN CONDICIONES NO REDUCTORAS PARA LA PRUEBA DE IDENTIDAD DE LA MUESTRA INTERÉS.	89
FIGURA 17. ELECTROFORESIS SDS-PAGE CONDICIONES REDUCTORAS PARA LA PRUEBA DE IDENTIDAD DE LA MUESTRA INTERÉS.	89
FIGURA 18 REPRESENTACIÓN GRÁFICA DEL WESTERN BLOT Y PROCESO DE DETECCIÓN.	90
FIGURA 19 WESTERN BLOT DE LA MUESTRA INTERÉS.	93
FIGURA 20 REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE LA REACCIÓN DE PROTEÍNA + BCA.....	94
FIGURA 21 CURVA ESTÁNDAR DE ALBUMINA A 5 CONCENTRACIONES 1 000, 750, 500, 250 Y 125 µG/ML.	96
FIGURA 22 LECTURAS DE LA CURVA ESTÁNDAR Y MUESTRA INTERÉS EN EL LECTOR DE MICROPLACAS POR EL MÉTODO DE BCA.....	96
FIGURA 23 ESQUEMA DE LOS ELEMENTOS DEL SISTEMA DE EC.	97
FIGURA 24 REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE LOS ANALITOS EN LA METODOLOGÍA CIEF.	98
FIGURA 25 ELECTROFEROGRAMA Y TABLA DE RESULTADOS DE LA PRUEBA CIEF DE LA MUESTRA INTERÉS PARA LA PRUEBA DE IDENTIDAD.	100

1. Presentación

El presente escrito expone el impacto de un egresado de la Licenciatura en Biotecnología en el Departamento de Biotecnología de la empresa farmacéutica mexicana Landsteiner Scientific S.A, resaltando especialmente cómo el egresado, en colaboración con otros departamentos y especialistas, utiliza sus competencias y experiencia para apoyar en la elaboración de protocolos de biocomparabilidad de medicamentos biotecnológicos, calificación de equipos, validación de sistemas computarizados y liberación de materias primas (MP) y productos terminados (PT) de medicamentos biotecnológicos biocomparables.

2. Resumen

La memoria de experiencia laboral describe las actividades llevadas a cabo durante un periodo de 34 meses ininterrumpidos (2 años, 10 meses) en la empresa farmacéutica mexicana Landsteiner Scientific S.A. En relación al marco institucional y teórico conceptual, se dan a conocer aspectos generales de la empresa y se resaltan las actividades realizadas, las cuales tienen como objetivo demostrar el conocimiento y habilidades adquiridas en la licenciatura por el pasante, aplicadas en la industria farmacéutica.

De los conocimientos aplicados, reforzados y adquiridos durante la experiencia laboral, destacan los siguientes: relación del empleado con la cultura organizacional de la empresa, capacitación en Procedimientos Normalizados de Operación (PNO's) e instructivos de trabajo relacionados Buenas Prácticas de Documentación (BDP), Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL), manejo de equipos de refrigeración, sistemas computarizados, elaboración de reportes de biocomparabilidad, empleo de normas y guías mexicanas e internacionales, que regulan a la industria farmacéutica en temas de fabricación, estabildades, fotoestabildades, validación de métodos analíticos y productos biotecnológicos. Las actividades mencionadas anteriormente tuvieron el objetivo de capacitar al empleado en los siguientes rubros:

- 1) Elaboración de guía de biocomparabilidad (pruebas de calidad y no clínicas), el cual es considerado una pieza fundamental en el inicio del estudio de confrontación entre un medicamento biotecnológico de referencia contra un medicamento candidato a biocomparable, cuya finalidad es describir los estudios de caracterización fisicoquímica y biológica realizados a moléculas de interés.
- 2) Apoyo al departamento de validación en la revisión de sistemas computarizados y en la calificación de los equipos con base en normas internacionales.
- 3) Descripción de técnicas analíticas que contribuyen en la liberación de lotes de materia prima, producto terminado y estabildades aceleradas y a largo plazo (por ejemplo: SDS-Page, en condiciones reductoras y no reductoras y determinación del punto isoeléctrico por electroforesis capilar y Western Blot).

Abstract

The work experience report describes the activities carried out during an uninterrupted period of 34 months (2 years, 10 months) in the Mexican pharmaceutical company Landsteiner Scientific S.A. Regarding the institutional and theoretical framework, showing general aspects of the company and highlighting the activities carried out by the graduate of the Bachelor in Biotechnology at Landsteiner Scientific, from December 2017, which aim is to demonstrate the knowledge and skills acquired during the bachelor's studies and applied to the pharmaceutical industry.

From the knowledge applied, reinforced and acquired during the work experience stands out: Training and qualifying the employee with the organizational culture of the company, training in Standard Operating Procedures (SOP's) or work guidelines related to Good Documentation Practices (GDP), Good Laboratory Practices (GLP), management of refrigeration equipment, computerized systems, preparation of biocomparability reports, use of Mexican and international framework and guides which regulate the pharmaceutical industry in matters of manufacturing, stabilities, photostability, validation of analytical methods and biotechnological products.

The activities described above had the objective of training the employee in:

- 1) The development of a biocomparability guidelines (quality and non-clinical tests), which are a fundamental piece to start the confrontation study between a reference biotechnological medicine and a drug candidate for biosimilar, and thereby describe the physicochemical and biological characterization studies carried out on molecules of interest;
- 2) Reviewing computerized systems and qualifying the equipment based on international framework as part of the validation department; and
- 3) Finally describing analytical techniques regarding the release of batches of raw material, finished product and accelerated and long-term stabilities, such as SDS-Page under reducing and non-reducing conditions, determination of the isoelectric point by capillary electrophoresis and Western Blotting.

3. Importancia de la temática

Hoy en día la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS), entidad regulatoria mexicana en materia de medicamentos, solicita que los productos biocomparables, los cuales son fármacos de origen biotecnológico que han demostrado ser comparables al medicamento de referencia, una vez que su patente ha expirado (Dorantes y Montes, 2010) cuenten con la calidad, seguridad y eficacia adecuadas; deben ser comparables con un producto biotecnológico de referencia, también conocido como medicamento innovador.

Actualmente existe una gama de técnicas analíticas a la vanguardia que permiten a los fabricantes de medicamentos biocomparables caracterizar los productos y contrastarlos con el producto de referencia comercializado (Falconer et al., 2011). Estas metodologías analíticas permiten dar soporte a la evidencia de biocomparabilidad, las cuales son incorporadas en el Documento Técnico Común (CTD) requerido por la COFEPRIS. Dicho documento debe seguir una secuencia lógica y estructurada que agrupe todos los documentos que demuestren que se cumple con la evidencia técnico-científica, la cual conduce a la evaluación de los datos de calidad, seguridad y eficacia del producto, demostrando la biocomparabilidad del medicamento evaluado (López et al., 2018). El CTD está conformado por 5 módulos (López et al., 2018):

- 1) Información administrativa (administración regional que no es parte del CTD).
- 2) Resumen de los módulos (en el caso de México, el dossier debe de incluir dicho resumen en el lenguaje original, así como su traducción al español).
- 3) Calidad (información del banco de células, proceso para la sustancia farmacológica y producto farmacológico, caracterización de la sustancia farmacológica y producto farmacológico).
- 4) Reportes de estudios no clínicos
- 5) Estudios clínicos.

Es importante contar con un documento que resuma la información solicitada por la COFEPRIS para el sometimiento de medicamentos biotecnológicos biocomparables, de manera que sea entendible para todos los involucrados y expertos que tengan acceso al documento. Además, es necesario el cumplimiento de la norma oficial mexicana (NOM) NOM-059-SSA1-2015 “Buenas prácticas de fabricación de medicamentos”, en relación a la calificación, calibración y validación de equipos, instrumentos, sistemas computarizados y metodologías analíticas, respectivamente, ya que el incumplimiento de los requisitos normativos asociados con las BPF y la NOM-059-SSA1-2015, pondrán en peligro la aprobación de los candidatos a medicamentos biotecnológicos biocomparables, o en su defecto, el permiso de su fabricación.

4. Descripción del puesto o empleo

4.1 Denominación del puesto

Auxiliar de Biotecnología (diciembre 2017 – junio 2019)

Analista de Desarrollo Analítico B (julio 2019 – noviembre 2020).

4.2 Justificación del puesto

Se requiere a un profesional con perfil de Químico Farmacéutico Biólogo, Ingeniero Químico, Ingeniero en Biotecnología o Licenciado en Biotecnología, con conocimientos en biotecnología farmacéutica, validación de metodologías analíticas, reportes de biocomparabilidad, métodos y técnicas de análisis específicos, así como en normatividad nacional (NOM-059-SSA1-2015, NOM-257-SSA1-2014, NOM-073-SSA1-2015, BPD). Por otro lado, es necesario conocer las buenas prácticas de manufactura o fabricación (BPM o BPF), y el manejo de equipos como gabinetes de bioseguridad, congeladores, ultracongeladores, espectro UV Visible, Electroforesis Capilar, cámaras de electroforesis, cámaras climáticas, entre otros.

4.3 Descripción del puesto de Auxiliar de Biotecnología

El principal objetivo del Auxiliar de Biotecnología es apoyar en la elaboración y verificación de documentos relacionados con procesos, manejo de métodos analíticos o caracterizaciones, calificación y validación de equipos y sistemas computarizados, seguimiento de inventario de materiales de laboratorio y apoyo en la recepción y envío de materiales, medicamento y muestras.

4.4 Descripción del puesto de Analista de Desarrollo Analítico B

El puesto de analista de desarrollo analítico B tiene como objetivo la implementación y ejecución de métodos biotecnológicos y fisicoquímicos, ya sea farmacopeicos o de proveedor, para la liberación de materias primas, producto terminado, material de envase y empaque. Así mismo, es responsable de la validación de los métodos analíticos implementados, con base en la verificación técnica de la información de las metodologías

biotecnológicas (ensayo de ácido bicinconínico (BCA), electroforesis, electroforesis capilar, western blot, Elisa), fisicoquímicas (cromatografía líquida de alta eficacia, cromatografía líquida de ultra alta resolución, y equipos generales de laboratorio), cultivo celular (generación de bancos maestros y de trabajo, ensayos de potencia), y de las normas mexicanas (NOM-059-SSA1-2015, NOM-257-SSA1-2014 y NOM-073-SSA1-2015) para el desarrollo de nuevos productos en la empresa.

4.5 Entorno del puesto

Entre las actividades que realiza el Analista de Desarrollo Analítico B en el departamento de Desarrollo Analítico, específicamente en el área de Biotecnología, se encuentran las siguientes: análisis de materias primas (MP), análisis de producto terminado (PT), gestión de calificación de equipos, gestión en la calibración de instrumentos, gestión de validación de sistemas computarizados, generación de solicitudes de pedido para la compra de insumos, reactivos, refacciones, servicios externos, entre otras.

5. Problemática identificada

Se argumenta que los biosimilares son proteínas muy complejas, difíciles de fabricar, difíciles de copiar, difíciles de purificar y difíciles de caracterizar, ya que al ser creadas por procesos biotecnológicos, el proceso para llegar a la molécula interés es crucial (Dorantes y Montes, 2010). Por lo tanto, actualmente la producción y comercialización de medicamentos biotecnológicos y biocomparables en la industria farmacéutica requiere de altos estándares de calidad que incluyen la calificación de equipos, validación de sistemas computarizados y estudios de biocomparabilidad; especialmente cuando se brindan productos biocomparables. La obtención del permiso de fabricación y registro sanitario de dichos medicamentos se realiza a través de entidades regulatorias, específicas de cada país, las cuales establecen vías estandarizadas para dichos procesos.

Debido a que la historia de los medicamentos biotecnológicos y biosimilares es muy corta, la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) y la Administración de Medicamentos y Alimentos (FDA), han sido las primeras agencias regulatorias que han establecido todo un proceso de autorización para dichos fármacos (Zuñiga y Calvo, 2009). En consecuencia, entidades regulatorias Latino Americanas, se han basado en guías publicadas por la EMA o la FDA para establecer normas, leyes o guías que permiten a las farmacéuticas participar en los procesos de obtención del registro sanitario, y que también otorgan acceso al permiso de fabricación de dichos fármacos.

La COFEPRIS ha actualizado e implementado un marco legal regulatorio para los medicamentos biotecnológicos y biocomparables en México, promulgando normas o leyes, tales como:

- NOM-257-SSA1-2014, “En materia de medicamentos biotecnológicos”, cuyos objetivos son establecer las especificaciones generales para el control de la fabricación de los medicamentos biotecnológicos, implantar el procedimiento para la autorización de protocolos de ensayos clínicos de medicamentos biotecnológicos y dictaminar las especificaciones con las cuales deben cumplir los medicamentos

biotecnológicos para ser reconocidos como medicamentos biotecnológicos de referencia.

- NOM-177-SSA1-2013 “Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Requisitos a que deben sujetarse los Terceros Autorizados que realicen las pruebas de intercambiabilidad. Requisitos para realizar los estudios de biocomparabilidad. Requisitos a que deben sujetarse los Terceros Autorizados, Centros de Investigación o Instituciones Hospitalarias que realicen las pruebas de biocomparabilidad”.
- Ley General de Salud, Artículo 222 Bis, menciona que los solicitantes que requieran un registro de medicamentos biotecnológicos, deberán cumplir con los requisitos y pruebas que demuestren la calidad, seguridad y eficacia del producto. Así como la presentación de estudios clínicos e *in vitro* que sean necesarios.

La regulación de medicamentos biotecnológicos y biocomparables es primordial, sin embargo, otro aspecto importante es el cumplimiento normativo de la NOM-059-SSA1-2015, la cual establece que todos los equipos y sistemas computarizados que impacten directamente en la calidad, seguridad y eficacia del producto deben estar calificados y validados previamente. Además, deberá ser evaluada la calidad del producto, antes de salir a la venta.

Esta memoria de trabajo presenta la participación del autor en diferentes vertientes. En primer lugar, en el apoyo de la elaboración de protocolos de biocomparabilidad de insulina glargina, que contengan las pruebas fisicoquímicas y biológicas que permitan demostrar que el medicamento biotecnológico es biocomparable y que cumple con las características de calidad, seguridad y eficacia.

La utilidad de dicho protocolo recae en la elaboración de reportes de biocomparabilidad (una vez que se tengan los resultados de las pruebas), el cual es anexado con el CTD requerido por la COFEPRIS para la obtención o renovación del registro sanitario de medicamentos biotecnológicos, en apego al artículo 222 Bis de la Ley General de Salud (LGS).

En segundo lugar, el apoyo en la calificación de equipos y validación de sistemas computarizados, los cuales son utilizados en el análisis o almacenamiento de productos biotecnológicos, de acuerdo al numeral 9. Por otro lado, apoyo en la calificación y validación de la NOM-059-SSA1-2015, el cual indica que un elemento esencial para el cumplimiento de las BPF es la calificación y validación de los equipos y sistemas computarizados, respectivamente, permitiendo demostrar que la fabricación de los medicamentos cumple las características fundamentales de funcionalidad, consistencia y robustez, garantizando la calidad de los medicamentos.

Por último, el apoyo en la liberación de materia prima y producto terminado de productos biotecnológicos de acuerdo a la NOM-059-SSA1-2015, de acuerdo al numeral 12 , que indica que todos los insumos y productos no deben de ser liberados para su uso o venta hasta que su calidad haya sido evaluada.

6. Objetivos y Justificación

6.1 Objetivo General

Contribuir en la divulgación de las aportaciones profesionales del Licenciado en Biotecnología en el campo de la industria farmacéutica.

6.2 Objetivos Específicos

- Describir el contexto administrativo del departamento de Biotecnología en la empresa farmacéutica Landsteiner Scientific, a través de la demostración explícita de sus funciones, con el propósito de ubicar la inserción del egresado en Biotecnología en el organigrama de la institución.
- Explicar las actividades laborales específicas del egresado torno a su participación en actividades operativas del Departamento de Biotecnología, a fin de puntualizar las aportaciones que brinda este departamento a la empresa.
- Comprender la importancia de adquirir experiencia laboral previa como elemento que fortalece la contribución del egresado a las funciones del departamento de Biotecnología.
- Elaborar una guía de biocomparabilidad que planteé las pruebas a realizar al candidato a medicamento biotecnológico biocomparable en México.
- Comprender la importancia de la calificación de equipos de laboratorio y la validación de sistemas computarizados.
- Realizar técnicas analíticas para liberar medicamentos biotecnológicos biocomparables que saldrán a la venta.

6.3 Justificación

La presente memoria de experiencia laboral se enfocó en aplicar lo aprendido por el pasante de la licenciatura en biotecnología en la vida profesional, describiendo las actividades realizadas durante su estancia laboral en una industria farmacéutica. Así, el presente trabajo permitió demostrar que los conocimientos teóricos y prácticos adquiridos a través del plan de estudios de la licenciatura de biotecnología de la Universidad Autónoma

del Estado de México, proveen al pasante de conocimientos aptos y competentes para poder insertarse en el mundo laboral.

7. Informe Detallado de las actividades

7.1 Marco Institucional

En este capítulo se darán a conocer los datos generales de la empresa en la cual ha tenido lugar la experiencia laboral, el organigrama general de la institución, misión, visión y productos que ofrece.

¿Qué es Landsteiner Scientific?

Landsteiner Scientific es una compañía farmacéutica mexicana fundada en 1998, dedicada a la fabricación, distribución y comercialización de productos para la salud; está inscrita en el Registro General de Contribuyentes con la Clave LSC9801296MA y se encuentra ubicada en: Calle: 6 Norte Lt. 14 Mz. H, colonia: Parque Industrial Toluca 2000, Entidad: Toluca, Estado de México, Código Postal: 50233, Tel: (722) 2 769030 / 2 764150.

Su nombre nace en honor al médico austriaco y nacionalizado norteamericano Karl Landsteiner, quien en 1930 recibió el Premio Nobel de Fisiología y Medicina por sus investigaciones en hematología e inmunología. El logotipo de la empresa hace alusión a la frase “abrazando la vida”, ya que del lado izquierdo se encuentra una persona abrazando un corazón el cual simula la vida (Figura 1). Landsteiner Scientific cuenta con más de 1,000 empleados y cubre el mercado nacional y de exportación a través de sus líneas comerciales. Se distingue por la investigación y desarrollo de medicamentos en áreas terapéuticas específicas, para lo cual mantiene un control de calidad acorde a los modelos mundiales. Los medicamentos de Landsteiner Scientific son producidos bajo los más estrictos estándares de calidad en México, con procedimientos certificados y basados en las Buenas Prácticas de Fabricación. Todo ello supervisado mediante un programa de auditorías internas llevadas a cabo por el Área de Aseguramiento de la Calidad (Landsteiner Scientific, 2016). Cuenta con una página web que describe los objetivos de la empresa, misión, visión, productos, áreas de investigación, entre otros, Figura 2 (Landsteiner Scientific, 2020).



Figura 1. Nombre y logo de la empresa Lansteiner Scientific. Fuente: Landsteiner Scientific (2020).



Figura 2. Inicio página web de la empresa Landsteiner Scientific. Fuente: Landsteiner Scientific (2020).

7.2 Misión

Landsteiner como empresa tiene la misión de contribuir al bienestar de la sociedad a través del desarrollo ético y profesional de productos innovadores y de excelencia al servicio de la salud (Landsteiner Scientific, 2020).

7.3 Visión

Tiene la visión de ser una empresa reconocida por su crecimiento a nivel nacional e internacional en el mercado farmacéutico, impulsada por su amplia gama de productos y programas integrales. Comprometidos en mantener excelentes índices de calidad, servicio al cliente y la formación de sus empleados (Landsteiner Scientific, 2020).

7.4 Objetivo

Mantener e incrementar los niveles actuales de satisfacción de los clientes y consumidores, así como garantizar una operación sustentable a largo plazo, sirviéndose de eficiencia operativa, comercial, administrativa y financiera; todo en un marco de generación de valor. Promover y mantener la excelencia en atención, conforme al progreso científico y tecnológico de la medicina, dentro de un entorno ético y humanístico. A través del trabajo conjunto, brindando a los profesionales de la salud, herramientas necesarias para el desarrollo de programas de educación médica continua y de investigación (Landsteiner Scientific, 2016).

7.5 Organigrama y funciones

Para el descubrimiento y desarrollo de nuevos fármacos, Landsteiner Scientific cuenta con un departamento de Nuevos Desarrollos, el cual se divide operativamente en tres grandes áreas:

1. Desarrollo Farmacéutico
2. Desarrollo Analítico (Biotecnología)
3. Soporte Documental

En la Figura 3 se muestra la relación de las tres áreas a través del organigrama institucional, y se destaca la ubicación del puesto de que desempeño el autor, objeto de esta memoria, dentro del departamento de Desarrollo Analítico (Biotecnología).

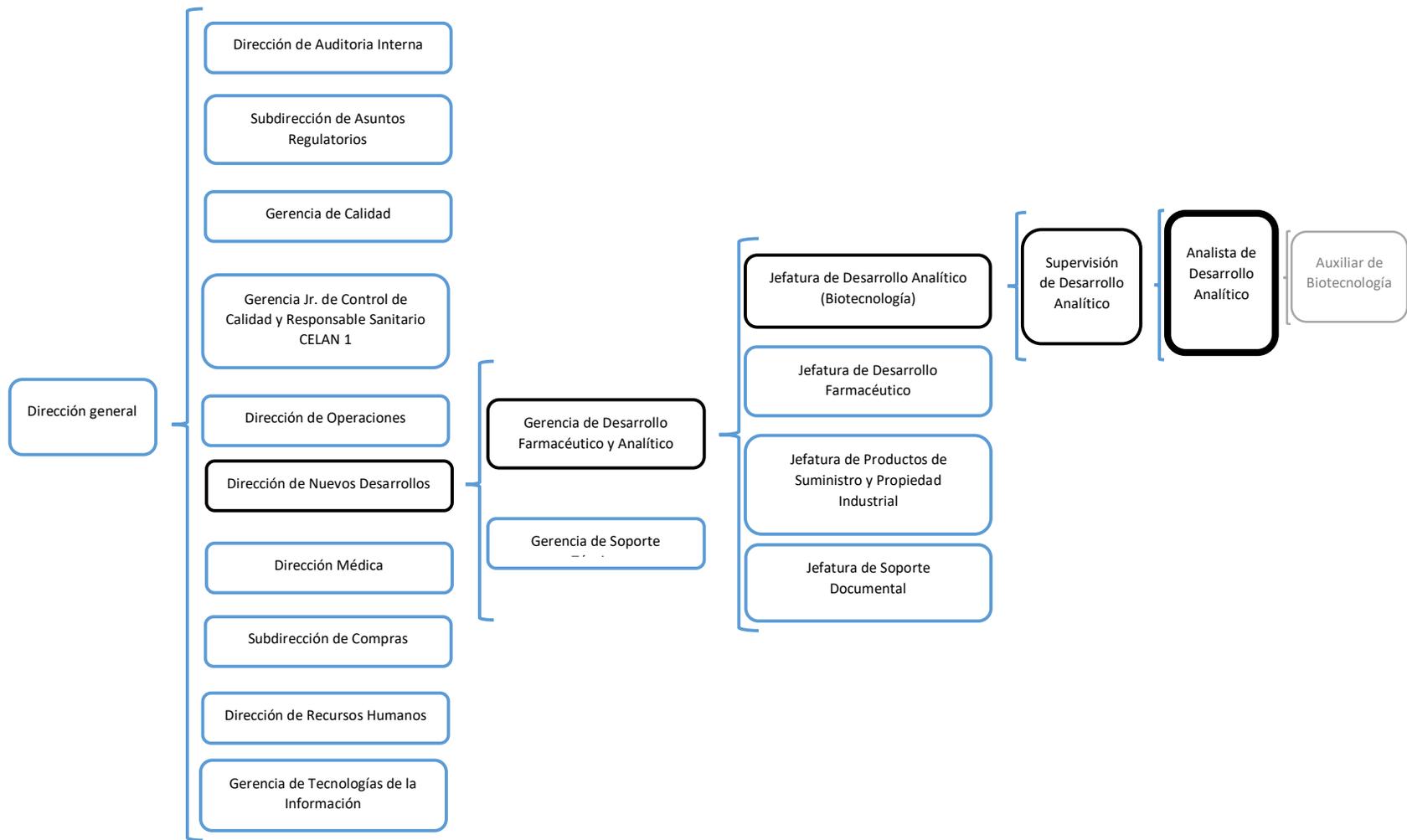


Figura 3. Organigrama de Landsteiner Scientific. Se destaca la ubicación del puesto objeto de esta memoria de experiencia laboral. El puesto de Auxiliar de Biotecnología actualmente no aparece en el organigrama vigente de Landsteiner Scientific, sin embargo se coloca para fines ilustrativos y prácticos de este trabajo. Fuente: Landsteiner Scientific (2020).

7.6 Funciones del Departamento de Nuevos Desarrollos

El objetivo del departamento de Nuevos Desarrollos es dotar a la empresa de medicamentos competitivos para que puedan permanecer y crecer en el negocio farmacéutico, así como el ser eficiente en la gestión de fases de cambio. Ya que como todo producto, el medicamento atraviesa por un ciclo de vida, nace, crece madura y declina (económicamente hablando), lo que significa que la compañía enfrenta retos importantes, el primer reto es encontrar nuevos medicamentos que reemplacen los que están declinando, el segundo, es administrar óptimamente cada etapa del ciclo de vida para los medicamentos existentes, ya sea comprando una patente, una licencia para producir algunos medicamentos genéricos o biotecnológicos biocomparables, mejoras o revisiones de medicamentos existentes. Los cuales se “convertirían” en medicamentos “nuevos y mejorados” que presentan cambios menores y significativos en su formulación, efectividad, potencia o la disminución de costos, conservando su calidad, seguridad y eficacia (Landsteiner Scientific, 2020).

7.6.1 Funciones del Departamento de Biotecnología

El departamento de Biotecnología en Landsteiner Scientific se enfoca en la investigación, desarrollo, y producción de medicamentos biotecnológicos para uso humano, con el objetivo de fortalecer e incrementar las herramientas terapéuticas existentes (Landsteiner Scientific, 2020).

Desde las primeras etapas de investigación, hasta la producción de cada medicamento biotecnológico, se emplean equipos con tecnología de punta, garantizando que cada medicamento cumpla con las especificaciones que dicta la normatividad y sea obtenido bajo los estándares de manufactura más estrictos a nivel mundial (Landsteiner Scientific, 2020).

7.7 Descripción de la Experiencia Laboral

En la siguiente sección se describirán las actividades realizadas dentro de la empresa Landsteiner Scientific, especificando aquellos proyectos en los que se tuvo alguna participación, utilizando los conocimientos adquiridos dentro en la licenciatura, y con ello se tendrá una visión de la aplicación de los conocimientos del pasante en la industria farmacéutica.

7.7.1 Experiencia Laboral previa (Prácticas Profesionales)

Durante el periodo de diciembre 2016 a junio 2017, se realizaron prácticas profesionales en la empresa Landsteiner Scientific S.A., específicamente en el Departamento de Biotecnología. Las principales actividades realizadas fueron:

- Inducción del puesto mediante la lectura de Procedimientos Normalizados de Operación (PNO's) internos, relacionados a la caracterización de medicamentos biotecnológicos, disposición, manipulación y almacenamiento de reactivos y soluciones reactivo, operación y registro de los termoregistradores, operación, limpieza y manejo de refrigeradores, congeladores y ultra-congeladores, entre otros.
- Análisis de normatividad nacional como:
 - NOM-059-SSA1-2015, "Buenas prácticas de fabricación de medicamentos", la cual establece los requisitos mínimos necesarios para el proceso de fabricación de los medicamentos para uso humano comercializados en el país y/o con fines de investigación (NOM-059-SSA1-2015, 2016).
 - NOM-257-SSA1-2014, "En materia de medicamentos biotecnológicos", que tiene como objetivo orientar para evaluar la información técnica y científica presentada como parte de la solicitud de registro de medicamentos biotecnológicos, describir los criterios a partir de los cuales el Ministro de Salud está autorizado para regular el proceso de aprobación de biofármacos, exponer las especificaciones generales para regular la fabricación de

biofármacos, detallar el procedimiento para autorizar ensayos clínicos utilizando biofármacos, requisitos que deben cumplir los medicamentos biotecnológicos para ser reconocidos como medicamentos biotecnológicos de referencia, entre otros (NOM-257-SSA1-2014, 2014)

- NOM-177-SSA1-2013. Establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Requisitos a que deben sujetarse los Terceros Autorizados que realicen las pruebas de intercambiabilidad. Requisitos para realizar los estudios de biocomparabilidad. Requisitos a que deben sujetarse los Terceros Autorizados, Centros de Investigación o Instituciones Hospitalarias que realicen las pruebas de biocomparabilidad, la cual menciona que se deben de realizar pruebas para demostrar la biocomparabilidad de los medicamentos biotecnológicos, así como los requisitos a que deberán sujetarse los Terceros Autorizados, Centros de Investigación o Instituciones Hospitalarias que lleven a cabo dichas pruebas (NOM-177-SSA1-2013, 2013).
- Análisis de normatividad internacional como:
 - Regulaciones Federales del Código (CFR) 21 parte 11 de la FDA, que describe los requisitos de seguridad lógica para empresas relacionadas con ciencias de la salud, garantizando que los registros y firmas electrónicas sean legítimos y auténticos, mejorar la seguridad y confiabilidad de los sistemas computarizados ocupados en las diferentes pruebas fisicoquímicas y biotecnológicas de Landsteiner Scientific (López O., 2019).
 - Consejo Internacional de Armonización (ICH) de los requisitos técnicos para el registro de medicamentos de uso humano Q6B “Procedimientos de prueba y criterios de aceptación para productos biotecnológicos / biológicos” la cual tiene como objetivo orientar sobre principios generales para el establecimiento y la justificación de especificaciones internacionales para productos biotecnológicos y biológicos (ICH Q6B, 1998) ; ICH Q1B “Pruebas de estabilidad: Pruebas de fotoestabilidad de nuevos principios

activos y fármacos”, la cual señala que las características de fotoestabilidad de la sustancia farmacológica y el producto farmacológico deben evaluarse para demostrar que la exposición a la luz no tiene como resultado un cambio inaceptable en el producto (ICH Q1B, 1998), entre otras.

El objetivo de leer documentos relacionados al flujo de trabajo interno de la empresa así como normatividad nacional e internacional relativa a la regulación de medicamentos biotecnológicos, fue para familiarizarse en el ámbito farmacéutico y el conocer los requisitos para poder analizar o someter a registro un medicamento candidato a biocomparable.

7.7.2 Descripción de funciones

Las actividades que se desempeñaron durante la actividad profesional en Landsteiner Scientific de diciembre de 2017 a la fecha son:

- Apoyo en la elaboración y verificación de protocolos de biocomparabilidad para productos de línea (con registro obtenido) o nuevos desarrollos (registro por obtener).
- Apoyo en la calificación de equipos, validación de sistemas computarizados.
- Apoyo en liberación de materia prima y producto terminado.

7.8.2.1 Apoyo en la elaboración y verificación de protocolos de biocomparabilidad para productos de línea (con registro obtenido) o nuevos desarrollos (registro por obtener)

La información concerniente a lineamientos y orientación para realizar estudios de biocomparabilidad se pueden encontrar en las NOM, guías nacionales emitidas por la COFEPRIS, guías internacionales emitidas por la FDA, la EMA, la ICH, organización mundial de la salud (OMS), entre otras. Sin embargo, la planeación de los estudios de biocomparabilidad en Landsteiner se basa en el análisis de dicha normatividad, guías y literatura científica por parte del experto, ya que contar con una propuesta de análisis de pruebas analíticas para evaluar la biocomparabilidad de cada producto biotecnológico, facilita la toma de decisiones de las pruebas a ejecutar. Lo cual, a su vez, permite demostrar

que un medicamento de prueba es biocomparable con un medicamento de referencia, facilitando la aprobación de medicamento candidato a biocomparable por la COFEPRIS.

El objetivo de esta actividad es dar a conocer los lineamientos generales para generar un protocolo de biocomparabilidad, fundamentado por estudios de caracterización fisicoquímica y biológica o funcional, de medicamentos biotecnológicos candidatos a biocomparables de productos de línea o nuevos desarrollos, con la finalidad de demostrar su calidad, seguridad y eficacia.

La EMA define a los medicamentos biotecnológicos como productos medicinales que contienen proteínas de origen biotecnológico como principio activo (EMA, 2012), mientras que la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM) duodécima edición los define como toda sustancia que haya sido producida por biotecnología molecular, que tenga efecto terapéutico, preventivo o rehabilitatorio, que se presente en forma farmacéutica, que se identifique como tal por su actividad farmacológica y propiedades físicas, químicas y biológicas (FEUM, 2018).

Desde el punto de vista bioquímico, estos fármacos son esencialmente cadenas polipeptídicas, proteínas o glucoproteínas, y esto explica que durante todo el proceso de su producción sea preciso un control riguroso. Es fundamental que la unión de los aminoácidos, así como la posterior glucosilación de la molécula proteica, se efectúe de forma adecuada para lograr el plegamiento correcto que determina la estructura tridimensional del compuesto, con el fin de conservar los procesos farmacodinámicos y farmacocinéticos inherentes al producto, garantizando además su eficacia, tolerancia y seguridad (Dranitsaris et al., 2011; Iglesias et al., 2013). Los medicamentos obtenidos por biotecnología constituyen una clase terapéutica emergente y representan el futuro de la medicina; desde 2010, cerca del 30 % de los proyectos de investigación que se están realizando lo hacen con este tipo de medicamentos (Herrero, 2010), principalmente a nivel oncológico, enfermedades infecciosas, reumáticas, cardiovasculares hematológicas o autoinmunes (Herrero, 2010; Iglesias et al., 2013; López et al., 2018).

La producción de estos medicamentos es compleja, tal como se observa en la Figura 4, ya que utiliza principalmente la tecnología de recombinación genética como proceso primordial de producción. Normalmente, la inserción de un gen en una célula hospedadora (como bacterias, levaduras o células de mamíferos) y su posterior cultivo produce, en dicho medio, la proteína que codifica el gen de interés. Esta proteína con actividad farmacológica se extrae y se purifica obteniendo el medicamento, o bien un precursor del mismo (Vendrely y Scheibel, 2007; Herrero, 2010; Dranitsaris et al., 2011). Debido a dicho proceso tan complicado y preciso, la fabricación de medicamentos biotecnológicos innovadores y más aún los biocomprables hoy en día es un gran reto para la industria farmacéutica.

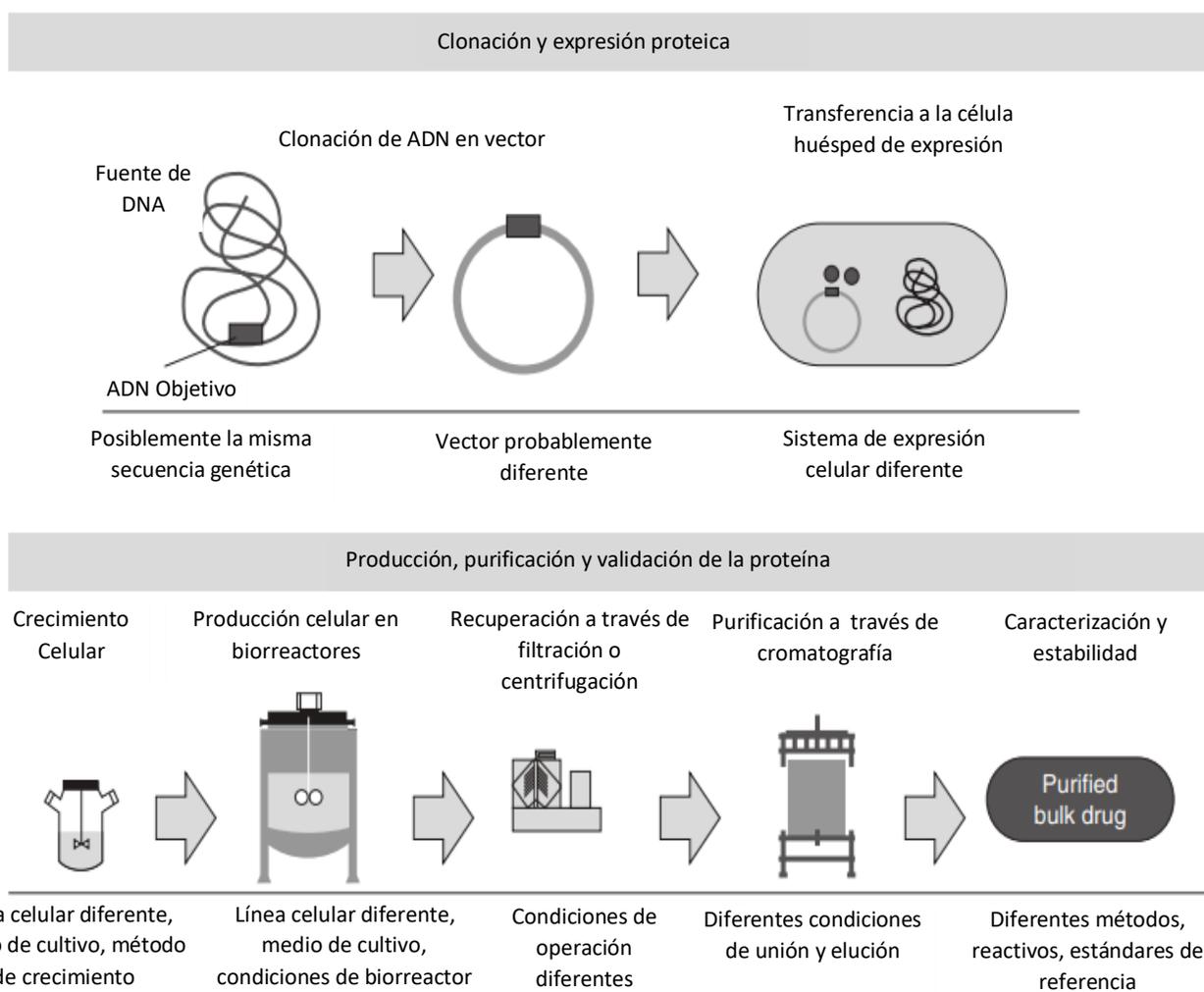


Figura 4. Proceso de fabricación de medicamentos biotecnológicos. Fuente: Extraído de Dranitsaris et al., (2011).

Los medicamentos biotecnológicos autorizados que surgieron a partir de la aprobación de la primera proteína recombinante (Insulina humana) por parte de la FDA en 1980, se han multiplicado exponencialmente habiéndose autorizado más de 100 moléculas biotecnológicas, tanto por la FDA como por la EMA (Dorantes y Montes, 2010). Algunos ejemplos de medicamentos biotecnológicos los podemos observar en la Tabla 1 (Dudzinski y Kesselheim, 2008), la cual enlista hormonas (insulina, eritropoyetina), anticuerpos monoclonales (infiximab, adalimumab), fragmentos proteicos sintéticos (etanercept, denileukin), entre otros. Es importante conocer los diferentes medicamentos biotecnológicos con los que cuenta el mercado actualmente, ya que empresas que quieran fabricar algún medicamento biocomparable de los mencionados en la Tabla 1, tendría que verificar si la patente está por vencer o si ya venció. Respecto a los precios, hay que destacar que son, como mínimo, un 25 % mayor que el de cualquier otro medicamento nuevo (Dudzinski y Kesselheim, 2008).

Tabla 1. Ejemplos de medicamentos Biotecnológicos.

Tipo de molécula	Ejemplos
Hormonas	Insulina, glucagón, hormona de crecimiento humano, tirotropina, hormona foliculo-estimulante, eritropoyetina
Citoquinas	Interferón-alfa, factor estimulante de colonias de granulocitos, interleukinas
Factores de coagulación	Factor VII, factor VIII, factor IX
Anticuerpos monoclonales	Bevacizumab, cetuximab, abciximab, rituximab, infiximab, tocilizumab, adalimumab, certolizumab pegol, denosumab
Enzimas	Glucocerebrosidasa, alteplasa, rasburicasa
Fragmentos proteicos sintéticos	Etanercept, denileukin diftitox
Nuevas moléculas conjugadas	Peg-interferón alfa-2a, peg-fi lgrastim, pegvisomant, ibritumomab, tositumomab, gemtuzumab

Fuente: Dudzinski y Kesselheim, (2008).

Debido al proceso innovador que implica su desarrollo y producción, los medicamentos biotecnológicos presentan diferencias considerables respecto a los “fármacos tradicionales o clásicos”. Ya que estos últimos presentan un menor peso molecular como se puede observar en la Figura 5, donde el peso molecular del ácido acetil salicílico (aspirina) es 32 veces menor al de la insulina y 833 veces menor al de un anticuerpo monoclonal (Iglesias et al., 2013).

Otras de las diferencias con las que cuentan los medicamentos tradicionales en contra de los medicamentos biotecnológicos, se pueden observar en la Tabla 2, como son: que los

tradicionales poseen una estructura química más simple y caracterizada, su proceso de producción cuenta con pocos pasos críticos, cuentan con un menor riesgo de inmunogenicidad, no existen diferencias o una variabilidad significativa entre lote y lote, entre otras (Ghosh et al., 2019). Es importante comprender las diferencias entre cada medicamento, ya que como fabricante debes de conocer las implicaciones que tiene la manufactura de cada uno, para evaluar la rentabilidad en costos de su fabricación y análisis.

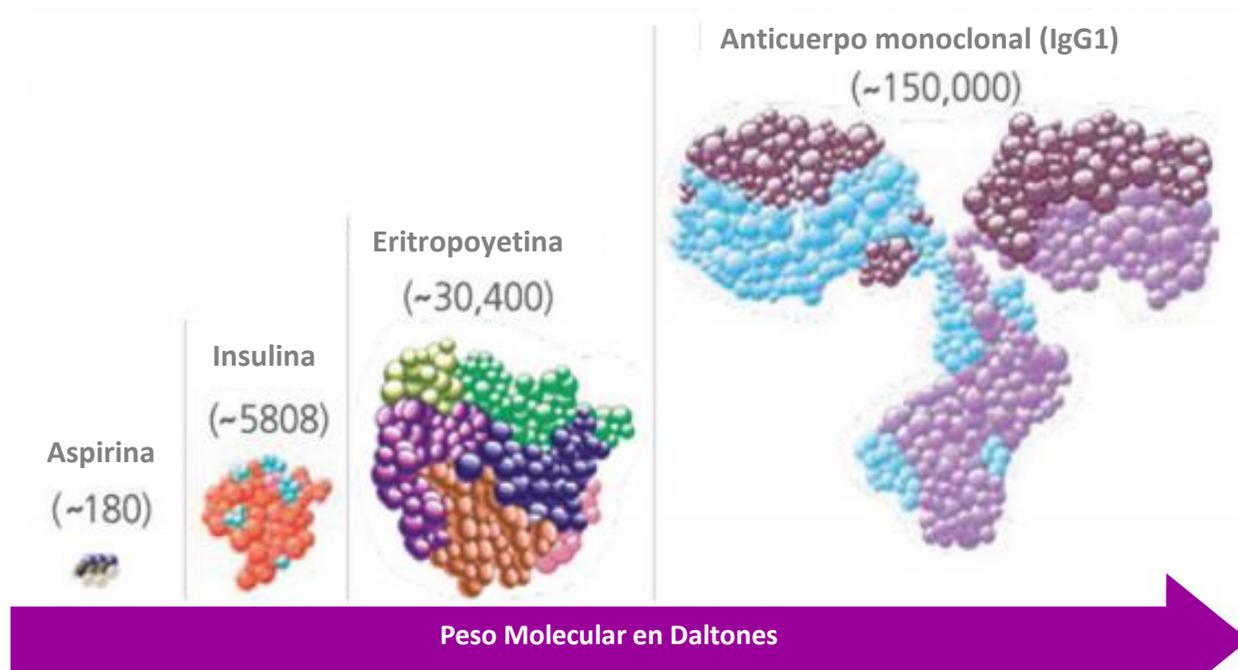


Figura 5. Pesos moleculares de diferentes productos biotecnológicos y químicos. Pesos moleculares de productos biotecnológicos como la insulina, eritropoyetina, anticuerpos monoclonales y de la aspirina, el cual es un compuesto químico convencional. Fuente: Extraído de Ghosh et al., (2019).

Tabla 2. Diferencias entre medicamentos tradicionales y biotecnológicos.

	Fármacos Tradicionales	Biofármacos
Obtención	Síntesis química	Participan organismos vivos (células, tejidos, etc)
Proceso de producción	Controlado y pocos pasos críticos	Muchos pasos críticos
Estructura del compuesto	Simple, homogénea, bien caracterizada	Compleja, heterogénea y menos caracterizada
Peso molecular	Bajo (<1 KDa)	Alto (>50 KDa)
Grado de Inestabilidad	Menor	Mayor (depende de las células, cepa o cultivos empleados)
Mecanismo de acción	Generalmente específico	Variable o aún desconocido

Administración	Usualmente vía oral	Generalmente vía parenteral (subcutánea, intravenosa)
Riesgo de Inmunogenicidad	Menor	Mayor

Fuente: Recuperado de Iglesias et al., 2013.

En la actualidad, ya ha expirado la patente de algunos de estos medicamentos de origen biotecnológico y han aparecido las primeras “copias” de los mismos, conocidos como biosimilares en Europa, “follow-on” o “follow-on biologics” en Estados Unidos de América, “subsequent entry biologics” en Canadá y “biocomparables” en México (Dorantes y Montes, 2010; Herrero, 2010; López et al., 2018).

Éstos son producidos por otro fabricante diferente al de patente, utilizando nuevas líneas celulares, nuevos procesos y diferentes métodos analíticos. Los medicamentos biocomparables son fármacos de origen biotecnológico, que se definen como proteínas recombinantes producidas de acuerdo a exigencias específicas establecidas por entidades regulatorias. En lo que se refiere a calidad, seguridad y eficacia, demostrando ser comparables al medicamento de referencia, una vez que la patente ha expirado (Alerany et al., 2014).

En vista de que la historia de los biocomparables es muy corta, y argumentando que estas son proteínas muy complejas, difíciles de fabricar, copiar, purificar, caracterizar (Dorantes y Montes, 2010), y resaltando que todos los medicamentos obtenidos por tecnología ADN recombinante (medicamentos biotecnológicos y biocomparables) requieren, para su aprobación y comercialización, seguir un procedimiento de conformidad (Herrero, 2010), la EMA ha establecido guías para regular la producción y comercialización de dichos medicamentos.

La EMA que se ha consolidado a nivel mundial como la autoridad con mayor experiencia y conocimiento en el tema de biocomparables, debido a que es la primera entidad regulatoria más avanzada en la formulación de políticas para este nuevo campo de investigación y desarrollo de medicamentos (Zuñiga y Calvo, 2009; Herrero, 2010; Iglesias et al., 2013).

Esta organización ha desarrollado guías perfectamente establecidas que definen el proceso de autorización que deben seguir los fabricantes de biocomparables, donde es necesario realizar estudios preclínicos y clínicos destinados a establecer su perfil de calidad, eficacia y seguridad (Dorantes y Montes, 2010; Herrero, 2010; Iglesias et al., 2013). Por ello, a diferencia de los medicamentos genéricos producidos por síntesis química, que para su aprobación únicamente requieren estudios de bioequivalencia con el medicamento de referencia en voluntarios sanos (Ambrosio, 2010), los biocomparables cuentan con diferentes criterios a analizar.

Entre ellos, el requerimiento de ensayos clínicos fase III con un elevado número de pacientes que demuestren su eficacia y seguridad en las patologías que la EMA ha definido en sus guías de autorización; ya que, no obstante, cuando la recibe no es sólo para esa indicación, sino para todas las que tenga establecido el medicamento innovador de referencia (Dorantes y Montes, 2010; Ambrosio, 2010; Iglesias et al., 2013). Otros criterios a analizar son: los estudios preclínicos, evaluación farmacodinamia, farmacocinética, inmunogenicidad, seguridad del fármaco y programas de farmacovigilancia como se observa en la Tabla 3 (Iglesias et al., 2013). El conocer dichos requisitos así como los criterios de evaluación antes mencionados, permite al fabricante conocer la forma de “evaluación” para tener éxito en la autorización de algún producto que quiera fabricar o vender, cuando el fabricante someta el expediente del producto a la entidad regulatoria correspondiente.

Tabla 3. Guía para la autorización de medicamentos biosimilares por la Agencia Europea de Medicamentos (EMA).

Criterios	Requisitos para la aprobación
Estudios preclínicos	Estudios comparativos (in vitro o con animales) y toxicológicos
Evaluación Farmacodinámica	Comprobar la similitud y eficacia respecto al mecanismo de acción
Análisis Farmacocinético	Valoración comparativa de la posología, vía de administración, así como de los procesos de absorción, distribución, metabolismo y excreción
Ensayos clínicos	Es necesario, en voluntarios, ampliar los estudios farmacocinéticos, y realizar también un ensayo de equivalencia con el biofármaco innovador de referencia, o un ensayo de tres brazos comparando con dicho producto de referencia y el placebo. Si es factible administrarlo por vía subcutánea e intravenosa, hay que realizar dos ensayos clínicos independientes
Extrapolación a otras indicaciones	Podría autorizarse, siempre que se analice específicamente el tipo de afección a tratar

Seguridad del fármaco	Debe ser demostrada, al menos, en un estudio de bioequivalencia con el biofármaco de referencia
Inmunogenicidad	En los ensayos clínicos se incluirán análisis basados en anticuerpos conformacionales e inmunoensayos, con el fin de intentar predecir la posible inmunorreactividad
Requisición tras su aprobación	Programas de farmacovigilancia y gestión de riesgos, imprescindibles tras su autorización, particularmente en los aspectos sobre seguridad y eficacia, así como valoración de la respuesta ante indicaciones extrapoladas

Fuente: Iglesias et al., (2013).

Estas guías específicas para biocomparables parten de una guía de carácter general, posteriormente existe una guía sobre calidad y otras sobre los aspectos clínicos y no clínicos que deben cumplir (Ambrosio, 2010; Iglesias et al., 2013). Por último, existen guías específicas para cada producto que definen desde el diseño que deben tener los ensayos clínicos a realizar para su registro, hasta cuándo se puede extrapolar una indicación y cómo evaluar la seguridad del fármaco (Ambrosio, 2010; Iglesias et al., 2013).

Cada biocomparable debe ser analizado de forma individual y distinta. De hecho, por esta razón, la EMA ha elaborado anexos específicos para cada una de las moléculas biotecnológicas que han perdido la patente, Tabla 4, (Ambrosio, 2010). Ya que el contar con guías específicas de cada producto es crucial, debido a que no todos los productos cuentan con la misma cantidad de aminoácidos, estructura primaria, secundaria, terciaria, así como las diferencias en su mecanismo de acción, forma de administración, entre otros, puesto que no es lo mismo evaluar una molécula de insulina a una de somatropina

Tabla 4. Guías establecidas por la EMA para la autorización de biocomparables.

Guías establecidas por la EMA para la autorización de bicomparables

General	Guideline on similar biological medicinal products CHMP/437/04 Rev 1 (Abril 2015)			
Calidad	Guideline on similar biological medicinal products containing biotechnology — derived proteins as active substance: Quality issues EMA/CHMP/BWP/247713/2012 (Noviembre 2012)			
Estudios clínicos y no clínicos	Guideline on similar biological medicinal products containing biotechnology — derived proteins as active substance: Non-clinical y clinical issues EMA/CHMP/BMWP/42832/2005 (julio 2015)			
Anexos	Epoetina CHMP/94527/05 (Julio 2006)	G-CSF CHMP/31329/05 (Junio 2006)	Somatropina CHMP/94528/05 (Junio 2006)	Insulina CHMP/32775/05 (Junio 2006)

Fuente: Recuperado de Ambrosio, (2010).

Como ocurre con cualquier medicamento en México, los biocomparables necesitan ser autorizados para su elaboración, comercialización y administración por la COFEPRIS, para asegurar su calidad, seguridad y eficacia, lo que hace que comparativamente resulten más costosos que los fármacos tradicionales (Herrero, 2010; Iglesias et al., 2013; López et al., 2018).

Actualmente, agencias regulatorias en todo el mundo (incluyendo a la COFEPRIS) han adoptado una vía de aprobación que incluye la evaluación de biofármacos en los siguientes niveles: Calidad (BPF), estudios no clínicos y ensayos clínicos (López et al., 2018), empleando el formato establecido por la ICH, conocido como Documento Técnico Común (Jordan, 2014). Dicho documento es representado mediante un diagrama en forma de pirámide o triangulo que se divide en tres niveles. La parte superior de la pirámide no forma parte del CTD, pero representa el módulo 1, de información administrativa regional.

En el segundo nivel se representa el módulo 2. Se divide en tres secciones: En la sección izquierda se incluye un resumen general de la calidad, en la parte central se incluyen una

descripción general y un resumen de la información no clínica o preclínica, y en la parte derecha se incluyen una descripción general y un resumen de la información clínica. La parte inferior de la pirámide se divide a su vez en tres secciones, cada una de las cuales representa un módulo individual.

En la parte izquierda se incluye el módulo 3, sobre la calidad. En la parte central se incluye el módulo 4, sobre los informes de los estudios preclínicos. Finalmente, en la parte derecha se incluye el módulo 5, sobre los informes de los estudios clínicos. Por consiguiente, el desarrollo preclínico ocupa la parte central de la pirámide, Figura 6 (Jordan, 2014). El tener homologado a nivel mundial un documento “armonizado o común” que reúna toda la información necesaria para el proceso de revisión regulatoria, para la venta y producción de un medicamento, permite una óptima y rápida revisión por la entidad regulatoria correspondiente. Aparte que para la industria farmacéutica, tiene la ventaja de evitar el “replanteamiento o reestructuración” de la información a otro formato, en caso de que se quiera someter el producto ante otra entidad regulatoria.

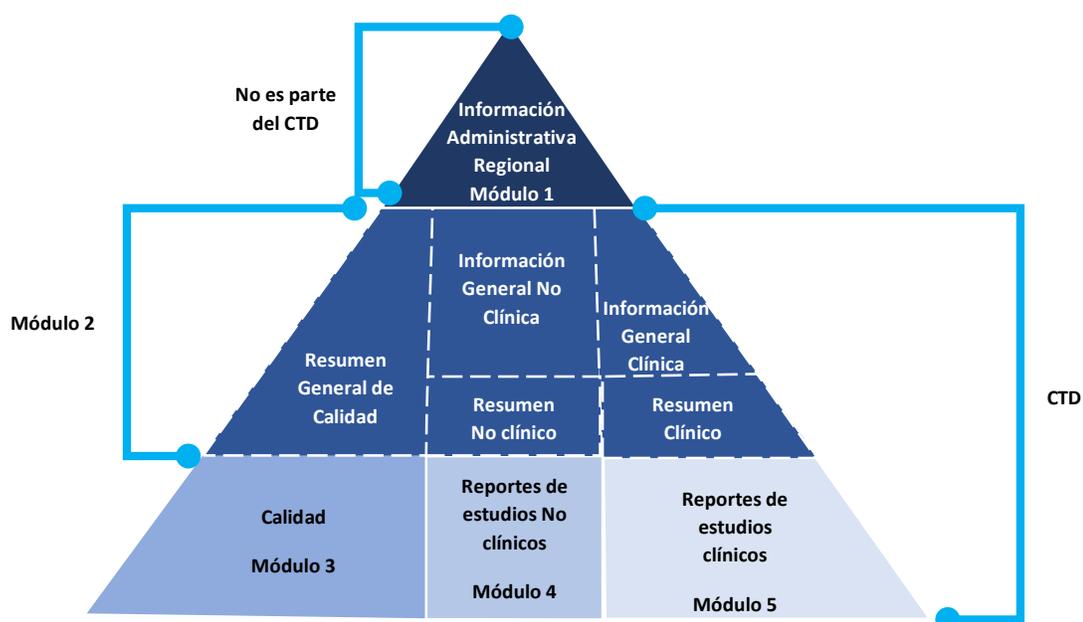


Figura 6. Triángulo del Documento Común Técnico (CTD por sus siglas en inglés). Fuente. Adaptado de Jordan, (2014).

El actual marco regulatorio mexicano considera dos nuevos grandes grupos de medicamentos:

1) Biológicos, que son productos obtenidos de microorganismos, virus o bacterias; secreciones, órganos, tejidos o células, ya sean animales o humanos, utilizados con fines preventivos, terapéuticos, rehabilitatorios o de diagnóstico, abarcando vacunas, productos sanguíneos y otros que no implican manipulación de ADN (FEUM, 2018).

2) Biofármacos, a toda sustancia que haya sido producida por biotecnología molecular, que tenga actividad farmacológica, que se identifique por sus propiedades físicas, químicas y biológicas y que reúna las condiciones para ser empleada como principio activo de un medicamento biotecnológico (NOM-072-SSA1-2012).

Dado que diversos medicamentos biológicos y biofármacos fueron aprobados antes de actualizar el marco regulatorio, la COFEPRIS estableció procedimientos para el nuevo registro y modificación de productos ya registrados (López et al., 2018). Por lo tanto, dicha institución se ha encaminado al establecimiento de criterios para redactar leyes, reglamentos, farmacopeas y documentos de orientación en materia de medicamentos biotecnológicos partiendo de una guía de carácter general.

Adicionalmente, existen guías específicas de BPF, etiquetado, estabilidades, ensayos clínicos en humanos, requerimientos para la autorización de terceros autorizados que ejecutan las pruebas de intercambiabilidad, pruebas de biocomparabilidad y farmacovigilancia, Tabla 5 (López et al., 2018). Debido a que la presente memoria de experiencia laboral tuvo lugar en México, es fundamental el conocer la distinta normatividad aplicable a los biofármacos a nivel nacional, ya que éstos tienen como objetivo guiar a los solicitantes, en este caso Landsteiner Scientific, a comprometerse y cumplir con los estándares de calidad para garantizar la calidad, seguridad y eficacia de sus productos

Tabla 5. Normas Oficiales Mexicanas y leyes que regulan a los biofármacos.

Norma Oficial Mexicana o Ley	Título	Fuente
Ley General de Salud	Ley General de Salud	http://www.diputados.gob.mx/LeyesBiblio/pdf/142_240120.pdf
NOM-012-SSA3-2012	Que establece los criterios para la ejecución de proyectos de investigación para la salud en seres humanos.	http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5284148yfecha=04/01/2013
NOM-059-SSA1-2015	Buenas prácticas de fabricación de medicamentos.	http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5424575yfecha=05/02/2016
NOM-072-SSA1-2012	Etiquetado de medicamentos y de remedios herbolarios.	https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5278341yfecha=21/11/2012
NOM-073-SSA1-2015	Estabilidad de fármacos y medicamentos, así como de remedios herbolarios	http://www.dof.gob.mx/nota_detalle_popup.php?codigo=5440183
NOM-164-SSA1-2015	Buenas prácticas de fabricación de fármacos.	http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5424377yfecha=04/02/2016
NOM-257-SSA1-2014	En materia de medicamentos biotecnológicos	http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5375517yfecha=11/12/2014
NOM-177-SSA1-2013	Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Requisitos a que deben sujetarse los Terceros Autorizados que realicen las pruebas de intercambiabilidad. Requisitos para realizar los estudios de biocomparabilidad. Requisitos a que deben sujetarse los Terceros Autorizados, Centros de Investigación o Instituciones Hospitalarias que realicen las pruebas de biocomparabilidad	https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5314833yfecha=20/09/2013
NOM-220-SSA1-2016	Instalación y operación de la farmacovigilancia.	http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5490830yfecha=19/07/2017

Fuente: Recuperado de López et al., 2018.

La información requerida para el sometimiento de registro sanitario de biofármacos por la COFEPRIS debe seguir una secuencia y estructura lógica, seleccionando los documentos que cumplen con la evidencia técnico-científica que conduce a la evaluación de los datos de calidad, seguridad y eficacia del producto (López et al., 2018). A continuación se resumen los puntos a presentar ante los expertos de la COFEPRIS así como la esquematización de los mismos en la Figura 7:

1. Información del banco de células: esta sección debe incluir datos de caracterización para confirmar la identidad, pureza y estabilidad genética de la línea celular. Este componente demuestra que la línea celular mantiene el gen recombinante que expresa

la proteína interés después del número de pases establecidos de acuerdo con los procedimientos de calidad (López et al., 2018).

2. Proceso para la Sustancia Farmacológica (DS) y Producto Farmacológico (DP) o Producto Terminado (PT): Esta sección incluye pasos de mapeo de procesos que incluyen los parámetros críticos del proceso (PCP) para cada paso crítico del mismo. Los criterios de aceptación del protocolo de validación del proceso deben basarse en los perfiles del producto objetivo de calidad (QTPP) intervalos de los Atributos Críticos de Calidad (ACC) para demostrar la consistencia de la fabricación con al menos tres lotes documentados en el informe de validación correspondiente (López et al., 2018).
3. Caracterización de DS y DP: esta sección incluye el uso de metodologías analíticas ortogonales y bioensayos para evaluar las propiedades fisicoquímicas y funcionales del producto (composición, forma, tamaño, masa y carga, afinidades y mecanismo de acción). La caracterización determina las propiedades que podrían afectar su funcionalidad y ayuda a establecer los ACC a considerar en las especificaciones de calidad (López et al., 2018).
4. Especificaciones: la información de esta sección garantiza la consistencia lote a lote de los ACC en cuanto a identidad, contenido, pureza, potencia y heterogeneidad. Para este propósito, el uso de metodologías adecuadas para la evaluación de tales ACC debe estar respaldado por un ejercicio de validación. Las especificaciones también deben abordarse para demostrar la estabilidad a largo plazo durante la vida útil del medicamento siguiendo la misma lógica de los ACC del lote (López et al., 2018).
5. Estudios no clínicos: el objetivo general de los estudios no clínicos en biofármacos es proporcionar una prueba de principio para el modo de acción e identificar cualquier posible efecto tóxico relevante. Las funciones efectoras, la reactividad cruzada de los tejidos, la inmunogenicidad y la estabilidad son las principales preocupaciones de seguridad para los biofármacos. Es importante destacar que la identificación de especies relevantes para probar la toxicidad, la comprensión de la interacción antígeno-anticuerpo objetivo y la interpretación de los resultados con respecto a la relación

exposición-respuesta, son elementos críticos que subyacen al diseño de una evaluación exitosa de la seguridad no clínica (López et al., 2018).

6. Estudios clínicos: esta sección está diseñada para incluir datos de eficacia para respaldar una o múltiples indicaciones, seguidos de los informes de eficacia que demuestran los criterios de valoración clínicos primarios y secundarios destinados a aumentar la tasa de supervivencia o mejorar la calidad de vida notable para el paciente o ambos, o abordar el empeoramiento de la enfermedad. Se incluye la seguridad bajo las condiciones de uso propuestas y los informes de eventos adversos. La necesidad de evaluar la inmunogenicidad potencial es relevante para la bioterapia (López et al., 2018).

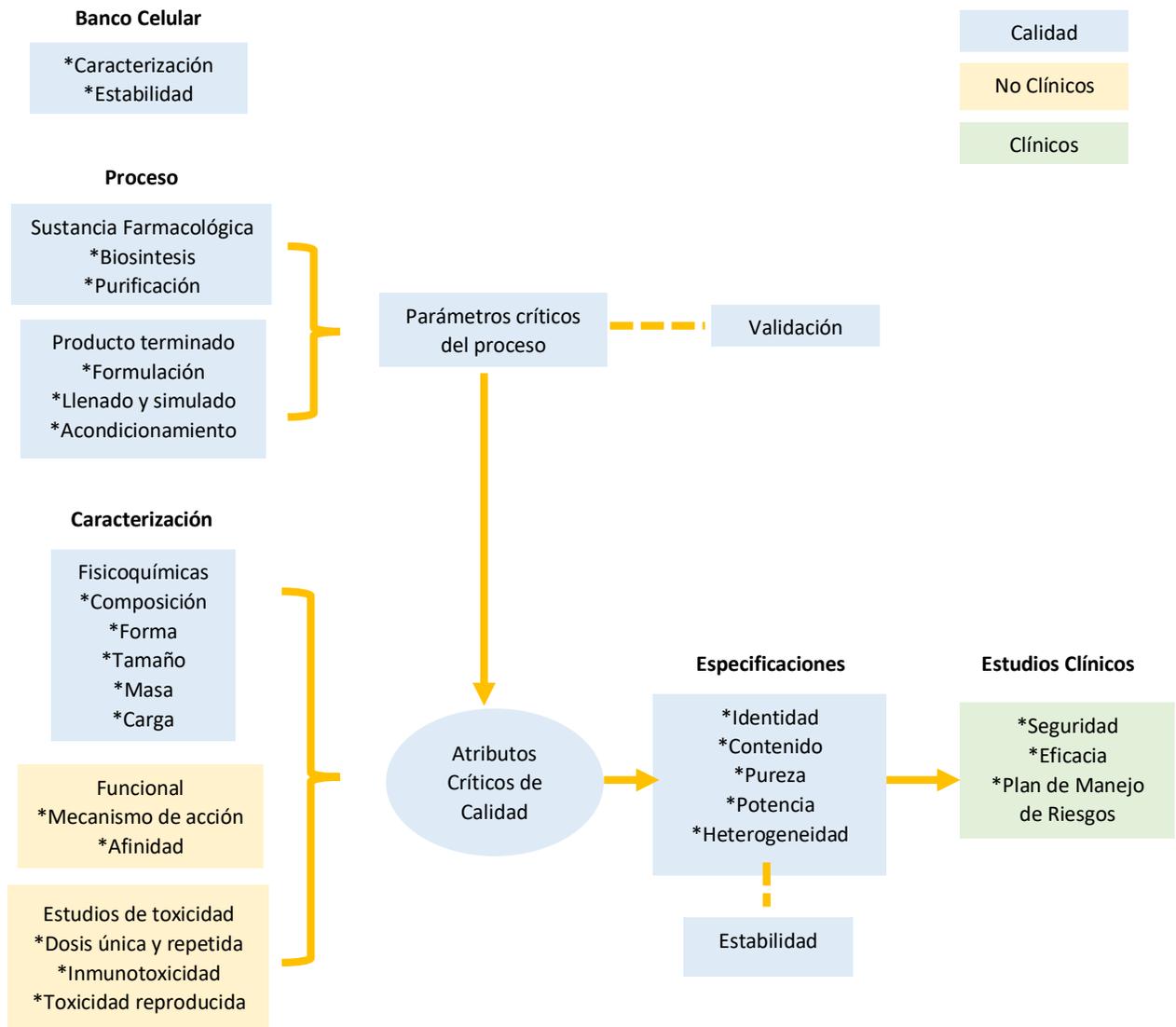


Figura 7. Información técnica que debe contener el CTD. Información Técnica que debe contener el CTD para obtener el registro de productos bioterapéuticos basada en la estructura del Documento Técnico Común. Calidad (azul), no clínica (anaranjado) y clínica (verde)). Fuente: Extraído de López et al., (2018).

La información requerida para registrar un biocomparable debe estructurarse siguiendo el esquema del CTD del medicamento de referencia, Figura 7 (López et al., 2018). Sin embargo, esta documentación debe contar con una sección de biocomparabilidad, la cual debe estar incluida para el sometimiento ante la COFEPRIS, Figura 8 (López et al., 2018).

Dicha sección tiene como objetivo demostrar que los ACC de la sustancia activa del biocomparable se encuentran dentro del mismo rango de variación que el producto de

referencia. Demostrar la biocomparabilidad de un medicamento candidato a biocomparable requiere ejercicios de comparabilidad a través de análisis exhaustivos, utilizando técnicas ortogonales para evaluar las propiedades fisicoquímicas y funcionales. Por otra parte, el ejercicio de comparabilidad clínica es un procedimiento gradual que debe comenzar con los ensayos clínicos de PK y PD que evalúan ampliamente la tolerabilidad e inmunogenicidad del biocomparable.

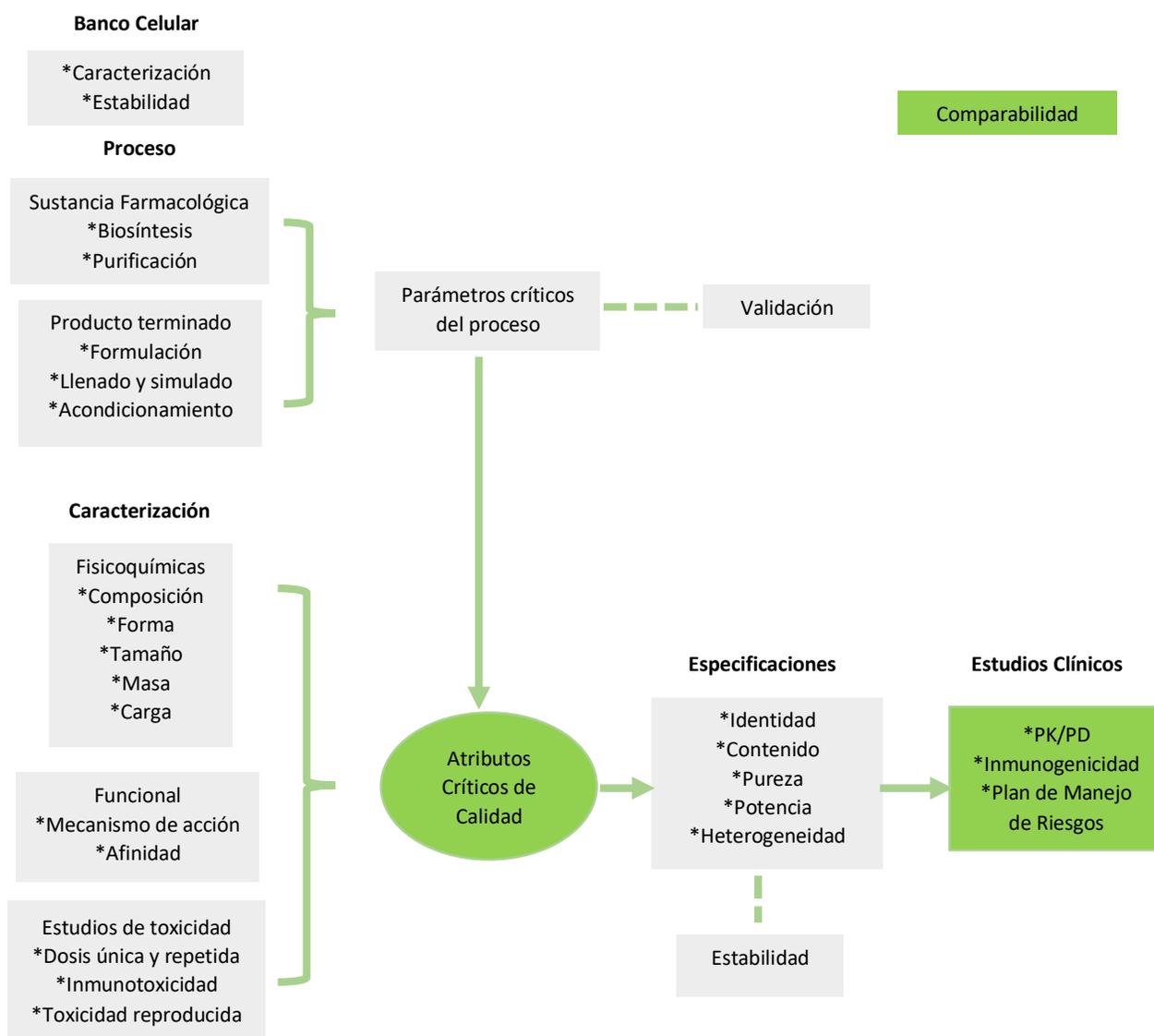


Figura 8. Información Técnica que debe contener el CTD para biocomparables. Esquema de la información técnica que se debe de someter para obtener el registro de biocomparables (gris). Teniendo en cuenta que se debe incluir una sección específica para biocomparabilidad (verde), y la información clínica debe incluir estudios de PK / PD, evaluación de inmunogenicidad y un plan de gestión de riesgos.).Fuente: Extraído de López et al., (2018).

De acuerdo a las guías, el alcance de los estudios fisicoquímicos y funcionales estará determinado por el grado de biocomparabilidad. Esto quiere decir que cuanto más comparables sean los atributos del biocomparable con respecto a los atributos del producto de referencia, las autoridades exigirán menos evidencia clínica y no clínica, como se puede observar en la Figura 9, donde la base del desarrollo de los biocomparables es la caracterización fisicoquímica mientras que la de los innovadores son los estudios clínicos (Ghosh et al., 2019). Bajo esta justificación, una molécula muy similar en términos de propiedades fisicoquímicas y funcionales dará como resultado perfiles de seguridad y eficacia muy similares, por lo que los estudios clínicos tendrían menos peso al momento de someter el producto ante la COFEPRIS, siempre y cuando efectivamente no existan diferencias significativas, entre el innovador y el candidato a biocomparable.

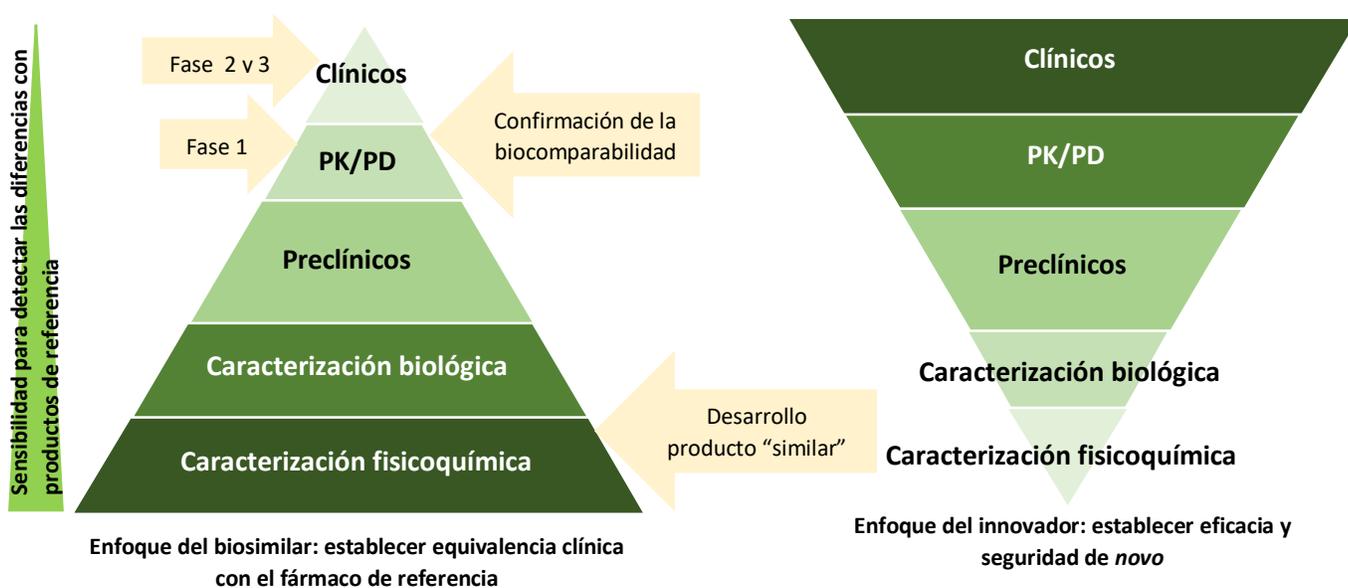


Figura 9. Vía de desarrollo de los biocomparables frente a los innovadores. Las fases de caracterización fisicoquímica y biológica de un biocomparable son más integrales para generar un producto “muy comparable”, mientras que el desarrollo de las fases clínicas 1, 2 y 3 requieren más énfasis para la aprobación reglamentaria de los productos biotecnológicos innovadores. Fuente: Extraído de Ghosh et al., 2019.

Además, dado que cada biofármaco (citocinas, hormonas, mAb y proteínas de fusión) tiene características diferentes a evaluar, la COFEPRIS ha publicado pautas específicas sobre la información que debe presentarse para demostrar la biocomparabilidad. Permitiendo al usuario centrarse en los atributos fisicoquímicos y funcionales que son relevantes para cada

molécula. Sin embargo, en algunos casos, es probable que no se haya emitido una directriz específica para todos los productos biofármacos disponibles; por lo que el usuario podrá utilizar la guía de otra molécula con características similares a las de la molécula de interés.

Protocolo de biocomparabilidad de Insulina Glargina

En México, en el año 2015, dos formulaciones de insulina glargina estaban disponibles comercialmente: el producto innovador mejor conocido como Lantus[®], fabricado por la empresa Sanofi-Aventis y una versión no innovadora conocida como Bonglixan[®], fabricado y comercializado por la empresa Landsteiner Scientific (Escobedo-Moratilla, et al., 2015). El registro de Bonglixan[®] ante la COFEPRIS se realizó antes de que en México se estableciera un marco regulatorio en tema biocomparables, por lo que no se contaba con el estudio de biocomparabilidad contra el innovador, acerca de sus propiedades estructurales y fisicoquímicas. Sin embargo, de acuerdo a Escobedo-Moratilla et. al., (2015), Landsteiner realizó una evaluación analítica y biológica para confirmar las propiedades de Bonglixan[®] en comparación con Lantus[®]. Dichas pruebas se agregaron al documento interno conocido como “Reporte de biocomparabilidad”, que se incluye en el CTD. Para generar dicho reporte es indispensable generar un “guía de biocomparabilidad”, el cual permite establecer o proponer las pruebas fisicoquímicas y biológicas necesarias para demostrar que el medicamento es biocomparable con el medicamento de referencia.

La participación del autor de estas memorias en esta actividad fue generar una guía de biocomparabilidad de insulina glargina, la cual está enfocada principalmente a los estudios de caracterización fisicoquímica y biológica. Dicha guía sirvió de base para decidir qué pruebas se aplicarían para demostrar que el medicamento es biocomparable (es necesario aclarar que las pruebas no fueron realizadas por el autor, ya que fueron ejecutadas por un tercero autorizado por la COFEPRIS, que se encarga de realizar pruebas de biocomparabilidad).

Guía de biocomparabilidad del medicamento insulina glargina (Bonglixan®) para demostrar su biocomparabilidad contra el medicamento de referencia (Lantus®)

Objetivo.

Definir las pruebas necesarias para evaluar la biocomparabilidad (calidad, fisicoquímicas, biológicas y preclínicas) de insulina glargina entre el medicamento de prueba Bonglixan® y el medicamento de innovador Lantus®

Antecedentes del medicamento

La insulina es la hormona “anabólica” por excelencia, que permite a nuestras células el aporte necesario de glucosa. A partir de esta glucosa, mediante los procesos de glucólisis y respiración celular, se obtendrá la energía necesaria en forma de adenosin trifosfato (ATP) (Hwang et al., 2016). En los mamíferos, la insulina se produce en el páncreas en los islotes de Langerhans, concretamente en las células llamadas beta. La insulina regula el metabolismo de los carbohidratos y las grasas para mantener los niveles de glucosa en la sangre al elevar la absorción de glucosa de la sangre a los músculos y el tejido graso (De Luis y Romero, 2013; Hwang et al., 2016).

La conformación estructural de la insulina es muy importante para poder desarrollar su actividad como hormona (De Luis y Romero, 2013). La insulina humana se compone de dos cadenas de polipéptidos, las cadenas A y B, que están unidas por enlaces de disulfuro; tienen una masa molecular de 5.808 Daltons, que consta de 51 aminoácidos (De Luis y Romero, 2013; Hwang et al., 2016). Originalmente la insulina era extraída del páncreas bovino y porcino para su uso en pacientes con diabetes. Sin embargo hoy en día, la insulina humana biosintética se fabrica mediante tecnología de ADN recombinante, lo que ha llevado a la habilidad de crear análogos de insulina humana mediante técnicas de ingeniería genética como la insulina glargina (Hwang et al., 2016).

Antecedentes técnicos del proceso de fabricación

Todos los análogos de insulina se producen en *Escherichia coli* o *Saccharomyces cerevisiae* y se modifican a partir del gen de la insulina humana mediante técnicas de ingeniería

genética (Hwang et al., 2016). Actualmente en el mercado comercial existen cinco tipos de análogos de insulina: la insulina lispro, glusina y glargina, las cuales se expresan en *E. coli*, mientras que la insulina aspart y detemir se expresan *S. cerevisiae*. Estos análogos se dividen en dos grupos, de acuerdo a su forma de acción, rápida (aspart, lispro y glucina) y basal o lenta (glargina y detemir) (De Luis y Romero, 2013; Hwang et al., 2016).

La sustitución de aminoácidos en análogos de insulina como en la insulina glargina y detemir, permite una mayor duración e inicio de acción más lento. La insulina glargina tiene una estructura similar a la insulina humana, excepto por la adición de dos residuos de arginina (RR, dos cargas positivas) en el C terminal de la cadena B y el reemplazo del aminoácido A21 de Asn a Gly en la cadena A, Figura 10 (Bolli y Owens, 2000; Furman, 2007; De Luis y Romero, 2013; Hwang et al., 2016). Esta modificación sirve para evitar la desamidación y la dimerización a través del residuo de ASN sensible al ácido en la posición 21, mientras que el reemplazo de ASN por GLY es neutral en cuanto a carga y está asociado con una buena estabilidad (Bolli y Owens, 2000).

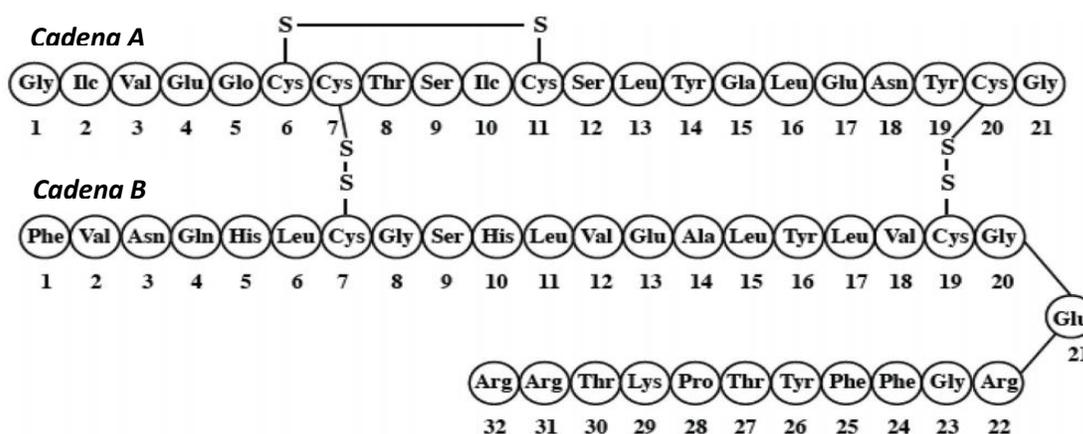


Figura 10. Estructura de Insulina Glargina. Fuente: Extraído de Hwang et al., (2016).

Estas modificaciones resultan en un cambio en el punto isoeléctrico de un pH de 5.4 (insulina humana) a 6.7 (insulina glargina humana). Provocando que la proteína sea menos soluble en el pH fisiológico del tejido subcutáneo y más soluble en condiciones ligeramente ácidas (Bolli y Owens, 2000; Furman, 2007; De Luis y Romero, 2013; Hwang et al., 2016). La insulina glargina es una solución transparente a pH 4.0 pero forma un precipitado a pH

fisiológico 7.0 después de la inyección subcutánea (Bolli y Owens, 2000; Furman, 2007; De Luis y Romero, 2013; Hwang et al., 2016). La estructura física del hexámero de insulina con iones de zinc puede influir en el mecanismo de precipitación y la cinética de su absorción y disolución (De Luis y Romero, 2013; Hwang et al., 2016). Como resultado, la inyección subcutánea de insulina glargina se considera de absorción prolongada y retardada del sitio de inyección. Tiene una duración de acción de 24 h sin pico y muestra un buen control glucémico, reduciendo la incidencia de hipoglucemia nocturna (De Luis y Romero, 2013; Hwang et al., 2016).

En la presente guía se resume lo siguiente: antecedentes técnicos del proceso de fabricación de insulina, el proceso de fabricación del API así como sus controles en proceso, proceso de fabricación del producto terminado; posibles atributos de calidad que permiten evaluar la criticidad de cada prueba y su importancia en la inmunogenicidad, seguridad y eficacia, las pruebas fisicoquímicas y biológicas propuestas.

En los antecedentes técnicos del proceso se debe colocar la siguiente información: en qué consiste el proceso de fabricación de la producción de la pre-proteína en *E. coli* transformada (línea celular), si se cuenta con bancos maestros y de trabajo, los medios de cultivo ocupados (inicio, si es enriquecido), Tabla 6. Esta tabla es importante en dicha guía ya que permite establecer el nombre de línea celular transformada ocupada para la síntesis de la insulina glargina, así como los medios ocupados durante todo el proceso.

Tabla 6. Antecedentes técnicos de fabricación.

Antecedentes técnicos del proceso de fabricación	
Línea celular	<i>E. coli</i> transformada (indicar el nombre de la línea celular)
Banco maestro, banco de trabajo	Indicar si se cuenta o no con ellos
Medios de cultivo	Incluir los medios de cultivo utilizados (al inicio, si es enriquecido y con que los alimentaban)

En esta tabla se muestran los antecedentes técnicos del proceso de fabricación (Indicar si es por parte del proveedor del API o si es de la empresa).

Para un mejor entendimiento del proceso, se realiza un diagrama de flujo del proceso de fabricación del API, en el cual se incluye la recuperación de la pre-proteína del medio de

fermentación, la eliminación de los desechos celulares/concentración de gránulos y el método por el cual se desechan (ejemplo: centrifugación diferencial), solubilización, el replegamiento a un intermedio similar a la proinsulina con los correctos enlaces de disulfuro, la eliminación enzimática de la secuencia líder y el péptido de conexión, purificación, cristalización, secado y llenado en los contenedores (Davies et al., 2017).

Así como los PCP, los cuales son variables que afectan al proceso de fabricación, y son monitoreados a través de controles de proceso (medición de pH, densidad óptica, temperatura, tiempo de incubación, pruebas de identificación como: electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato sódico (SDS-PAGE), cromatografía líquida de alta eficiencia en fase inversa (RP-HPLC), cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC), entre otras, contenido de humedad, contenido de zinc, endotoxinas bacterianas, esterilidad, pH, volumen de llenado hermeticidad, etc.) para detectar desviaciones en las operaciones estándares de producción y la calidad de salida del producto o cambios en los ACC (Davies et al., 2017).

Una vez establecido el proceso de fabricación del API, se procede a proponer los diferentes ACC, de los cuales se evalúa el impacto en la eficacia, seguridad o inmunogenicidad. Estos atributos son los que se deben evaluar en el estudio de biocomparabilidad y permiten establecer que pruebas fisicoquímicas y biológicas son necesarias y fundamentales para demostrar que el biocomprable es seguro, eficaz y no impacta en la inmunogenicidad. A continuación en la Tabla 7, se dividen los ACC en tres niveles de criticidad, la relevancia clínica de cada atributo, las pruebas analíticas para evaluar dichos atributos. Este punto es crucial en la guía de biocomparabilidad ya que son las pruebas que determinaran si la insulina glargina Bonglixan® es biocomprable contra el medicamento de referencia Lantus®.

Tabla 7. Atributos críticos de calidad propuestos para Insulina Gargina.

Criticidad	Atributo	Relevancia Clínica	Prueba (s) Analítica (s)
Muy alta	Estructura primaria de aminoácidos	Eficacia, seguridad e inmunogenicidad	Degradación de Edman, Mapeo Peptídico (por Cromatografía líquida acoplada a espectroscopia de masas LC/MS), espectroscopia de masas en tándem (MS/MS)
	Grupos sulfhidrilos		Reactivo de Ellman
	Puentes de Disulfuro		Cromatografía líquida acoplada a espectroscopia de masas en tándem (LC/MS/MS)
	Patrón de Isoformas		
	Patrón Electroforético	Eficacia y seguridad	Electroforesis Capilar (EC)
	pH		Método Potenciométrico
	Estructuras de Orden Mayor (2°, 3° y °4)	Eficacia e inmunogenicidad	Espectroscopia de dicroísmo circular (DC), espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN), espectroscopia de fluorescencia
	Agregados de alto peso molecular	Inmunogenicidad	Cromatografía de exclusión de tamaño (SEC)
Alta	Unión a objetivo		Resonancia de plasmón superficial (SPR), Ensayo de unión a receptor in vivo: ambos receptores de insulina humana (IR-A e ir-B), cinética celular,
	Potencia	Eficacia e inmunogenicidad	Bioensayos como: Actividad biológica in vitro: autofosforilación del receptor, actividad metabólica de al menos tres diferentes ensayos (formación de glucógeno, litogénesis, inhibición de la lipólisis estimulada, transporte de glucosa)
	Variantes truncas	Eficacia	Cromatografía en fase reversa (RPC),espectroscopia de masas (MS)
Baja	Deamidaciones		Cromatografía de intercambio catiónico
	Impurezas	Eficacia	Cromatografía líquida de alto rendimiento de fase inversa (RP-HPLC), electroforesis en gel de poliácridamida con

Una vez identificados los ACC, su criticidad, relevancia clínica y rigor estadístico, se procede a seleccionar las pruebas analíticas adecuadas para examinar cada atributo (Sullivan y DiGrazia, 2012). Agencias como la FDA y EMA recomiendan utilizar múltiples métodos para reducir la posibilidad de diferencias no detectadas, lo que se conoce como metodología ortogonal, que es el utilizar dos o más pruebas analíticas completamente diferentes para garantizar resultados reproducibles y confiables con suficiente sensibilidad y especificidad. Ya que el empleo de diferentes métodos que utilizan diferentes principios fisicoquímicos o biológicos para evaluar el mismo ACC fortalece el resultado y garantiza la precisión (Sullivan y DiGrazia, 2012).

Pruebas de Biocomparabilidad

Peso molecular

El peso molecular de la molécula intacta es el primer parámetro físico que debe de analizarse, ya que define la identidad, subunidades y confirma la estructura primaria de un medicamento biotecnológico. La determinación del peso molecular de la molécula intacta requiere la utilización de los equipos más avanzados de espectrometría de masas (MS) con un alto poder de resolución y precisión de masa como: Espectrometría de Masas por desorción/ionización láser asistida por matriz de tiempo de vuelo (MALDI-TOF) y/o por la espectrometría de masas cuadrupolo de ionización por electropulverización de tiempo de vuelo (ESI-QTOF) (Sullivan y DiGrazia, 2012; Parr et al., 2016; Ghosh et al., 2019).

Estructura primaria de aminoácidos

La estructura primaria de aminoácidos es de suma importancia para la funcionalidad de la proteína, por lo cual debe ser exactamente la misma para el producto biocomprable y el

producto de referencia, siendo importante su determinación. La estructura primaria de una proteína terapéutica generalmente se analiza mediante el enfoque "bottom up" (de abajo hacia arriba). Estos métodos son reconocidos como métodos estándar para investigar la secuencia de aminoácidos (AA), enlaces disulfuro y modificaciones post-traduccionales de bioterapéuticos. Las pruebas analíticas comúnmente aplicadas para evaluar la estructura primaria incluyen, pero no se limitan a: la secuenciación de aminoácidos, el mapeo de péptidos (por RP-HPLC, MS/MS, LC/MS/MS), la caracterización de enlaces disulfuro (mediante reactivo de Ellman), la glicosilación (cromatografía de intercambio aniónico de alto rendimiento con análisis de detección amperométrica pulsada, HPAEC-PAD). Ya que, en caso de que la secuencia de aminoácidos no sea idéntica, la interacción de aminoácido y aminoácido pueden conducir a un plegamiento inexacto, impactando en la seguridad, eficacia e inmunogenicidad del producto así como los enlaces disulfuro que podrían afectar en la actividad biológica) (Sullivan y DiGrazia, 2012; Parr et al., 2016; Ghosh et al., 2019).

Estructura de orden superior

Las estructuras de orden superior analizan la estructura tridimensional formada a partir del plegamiento de proteínas e incluyen análisis de estructuras secundarias, terciarias y cuaternarias. La estructura secundaria analiza el esqueleto del péptido y puede evaluarse mediante espectroscopia de dicroísmo circular (CD). La estructura terciaria analiza las interacciones de la cadena lateral y se puede evaluar a través de numerosos métodos, incluida la espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN), espectroscopia de CD, espectroscopia de fluorescencia y calorimetría diferencial de barrido (DSC). La estructura cuaternaria se forma a través del plegamiento y las interacciones de 2 o más cadenas de péptidos y se puede determinar midiendo su peso molecular en solución. Las pruebas de estructura de orden superior analizan la función de los productos biotecnológicos definiendo las interacciones con el receptor asociado confirmando las interacciones del esqueleto y la cadena lateral del péptido) (Sullivan y DiGrazia, 2012; Parr et al., 2016; Ghosh et al., 2019).

Modificaciones post-traduccionales

Las modificaciones postraduccionales son modificaciones enzimáticas que influyen en las propiedades fisicoquímicas y biológicas de una proteína, las cuales pueden afectar la inmunogenicidad, respuesta inmune y eficacia clínica. Los cambios en la proteína pueden ocurrir en cualquier paso del proceso de fabricación. Las modificaciones comunes incluyen glicosilación y fosforilación. La glicosilación une un glicano a una molécula para mejorar la solubilidad, la estabilidad, la inmunogenicidad o el plegamiento de proteínas. La fosforilación une un grupo fosforilo a una molécula para alterar muchos procesos celulares (por ejemplo, transducción de señales). La cromatografía y la espectroscopia de masas son las pruebas analíticas más confiables que se utilizan para determinar los patrones de glicosilación, mientras que el Western Blot y el ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) son las pruebas más comunes y potentes para analizar la fosforilación. Tanto la glicosilación como la fosforilación pueden tener un efecto notable sobre la eficacia y la seguridad de una proteína) (Sullivan y DiGrazia, 2012; Parr et al., 2016; Ghosh et al., 2019).

Unión a objetivo, blanco o diana

La habilidad de un medicamento biotecnológico de unirse al receptor objetivo, demuestra un correcto arreglo conformacional de la proteína e integridad estructural de la molécula que son necesarios para iniciar la acción farmacológica. La unión al blanco, es un ACC de alta criticidad, ya que desencadena la cascada de señalización responsable del efecto del producto. La resonancia de plasmones en superficie (SPR) es una técnica óptica utilizada para detectar interacciones moleculares o unión a receptor. Otros ensayos utilizados para evaluar la similitud de unión a receptor incluyen funciones efectoras, receptores Fc y unión al antígeno en función de los mecanismos de acción) (Sullivan y DiGrazia, 2012; Parr et al., 2016; Ghosh et al., 2019).

Pureza

Las impurezas pueden estar relacionadas con el producto o el proceso y pueden afectar todos los aspectos del perfil de un producto. Las impurezas relacionadas con el producto son variantes intrínsecas relacionadas con la proteína, mientras que las impurezas relacionadas con el proceso pueden ser introducidas por el proceso de producción. Las fuentes de impurezas incluyen proteínas de la célula huésped, sustratos celulares, el medio de cultivo, variantes moleculares, degradación y el proceso de producción. Todas las impurezas deben identificarse y estar dentro de los límites establecidos por la entidad regulatoria (en caso de México la COFEPRIS). Al analizar las impurezas de un producto biocomparable, se debe de tomar en cuenta que estas deben reflejar las impurezas del producto de referencia. Sin embargo, las impurezas relacionadas con el proceso pueden ser diferentes entre el producto biocomparable y el de referencia, ya que el proceso de fabricación es o puede ser diferente. Los métodos analíticos utilizados para evaluar la pureza incluyen electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio (SDS-PAGE), HPLC de intercambio catiónico, HPLC de exclusión por tamaño y ELISA. Estas pruebas analíticas separan las proteínas a través de diferentes métodos para identificar la concentración y las especies de impurezas) (Sullivan y DiGrazia, 2012; Parr et al., 2016; Ghosh et al., 2019).

Potencia.

La potencia es una medición cuantitativa de la actividad biológica. Los bioensayos que reflejan la actividad biológica en una situación clínica son preferidos para probar la potencia, pero no siempre son posibles. Las pruebas de potencia incluyen tres estudios principales: bioensayos de bioactividad, ensayos de unión a receptor y estudios de contenido de proteínas. La respuesta biológica a estos estudios se determina tratando líneas celulares adaptadas *in vitro* o proteínas recombinantes que están diseñadas para responder a un receptor, antígeno o factor de crecimiento específico. La bioactividad se puede predecir mejor utilizando ensayos funcionales que demuestren la relación entre la estructura del biocomparable y la función que desempeñará. Los ensayos diferirán según el mecanismo de acción del producto biotecnológico. Estas relaciones incluyen proliferación, citotoxicidad, diferenciación, secreción de citocinas y activación. Además de los ensayos de

proliferación, la concentración de proteínas y los estudios farmacocinéticos y farmacodinámicos son necesarios para determinar cómo la potencia del biosimilar y la resistencia del fármaco se comparan con el producto de referencia) (Sullivan y DiGrazia, 2012; Parr et al., 2016; Ghosh et al., 2019).

Referencias

Por último en este apartado se colocan todas las referencias bibliográficas ocupadas en la elaboración del protocolo de biocomprabilidad

7.8.2.2 Apoyo en la calificación de equipos y validación de sistemas computarizados

El objetivo de este apartado es dar a conocer la importancia y los lineamientos generales que se deben de tomar en cuenta al ejecutar la calificación de equipos y validación de sistemas computarizados en la industria farmacéutica, con base a la NOM-059-SSA1-2015, que establece que todos los equipos y sistemas computarizados que impacten directamente en la calidad, seguridad y eficacia del producto deben de estar calificados y validados previamente. Así como el ejemplificar los aspectos que se deben de incluir en los Requerimientos de Usuario (ERU) para un equipo de ultracongelación y las consideraciones que se deben incluir en el Modo de Falla y Análisis de Efectos (AMEF), ERU y Especificaciones Funcionales (EF) del sistema computarizado 32 Karat[®] / PA 800 plus[®], los cuales se encuentran en el área de Biotecnología y fueron actividades realizadas durante la estancia laboral en Landsteiner Scientific. Dichos documentos son piezas fundamentales para iniciar la calificación del equipo y validación del sistema computarizado, sin embargo la Calificación de Diseño (DQ), Calificación de Instalación (IQ), Calificación de Operación (OQ) y Calificación de Desempeño (PQ), no tienen alcance en este trabajo ya que esa actividad está a cargo del departamento de Validación de Landsteiner Scientific.

Validación de equipos en la industria farmacéutica

El sistema de gestión de calidad tiene como objetivo garantizar la confiabilidad para la adecuada fabricación de medicamentos, es decir, asegurar que los medicamentos se diseñan y elaboran de acuerdo a lo estipulado por las Normas Nacionales (NOM-059), leyes

(Ley General de Salud) y guías internacionales que han sido adoptadas por la COFEPRIS. Estas son, las Buenas Prácticas de Manufactura (BMP) y las Buenas Prácticas de Laboratorio (BLP) (Bedson y Sargent, 1996; Peña, 2010). Dicho marco regulatorio identifica, define y describe aspectos técnicos y administrativos que rigen los procesos de la organización productiva (especificaciones, ensayos, documentación y procedimientos de entrega) que aseguran y garantizan la calidad del producto. En este marco, cabe resaltar dos elementos de calidad que podrían considerarse como los principios básicos de la garantía de calidad; Validación y Calificación. Estos elementos están estrechamente relacionados y son complementarios e imprescindibles para seguir el cumplimiento de normas de calidad. En términos generales, calificación consiste en verificar cuantitativamente el correcto funcionamiento de los equipos, sistemas de manufactura, instrumental analítico y utilitario necesario para la elaboración y análisis de los productos, entregando resultados confiables y reproducibles; por otra parte validación comprende la verificación cuantitativa del correcto desarrollo de procesos y métodos analíticos involucrados. Por lo tanto, para validar un proceso es requisito fundamental que los equipos involucrados estén calificados, así, el uso de un equipo calificado en los análisis contribuye a la confianza en la validez de los datos generados (Peña, 2010).

Todos los elementos de los procesos/sistemas previamente identificados como “críticos”, es decir, con una contribución significativa a la calidad de los resultados esperados, deben ser calificados (locales/áreas, equipos, materiales, operadores) o validados (sistemas computarizados, métodos analíticos) (Bedson y Sargent, 1996; Winter, 2006) como se puede observar en la Figura 11, la cual describe brevemente en que consiste cada etapa de la calificación de un equipo así como preguntas claves que ayudaran a identificar lo necesario en cada etapa y la Figura 12 la cual muestra la relación entre a las cuatro fases y sus aspectos, ya que dicho proceso es secuencial y no se puede pasar al otro sin haber concluido el anterior. Por lo que es importante conocer las etapas, su relación y secuencia para tener un proceso exitoso y no detener el flujo de trabajo.

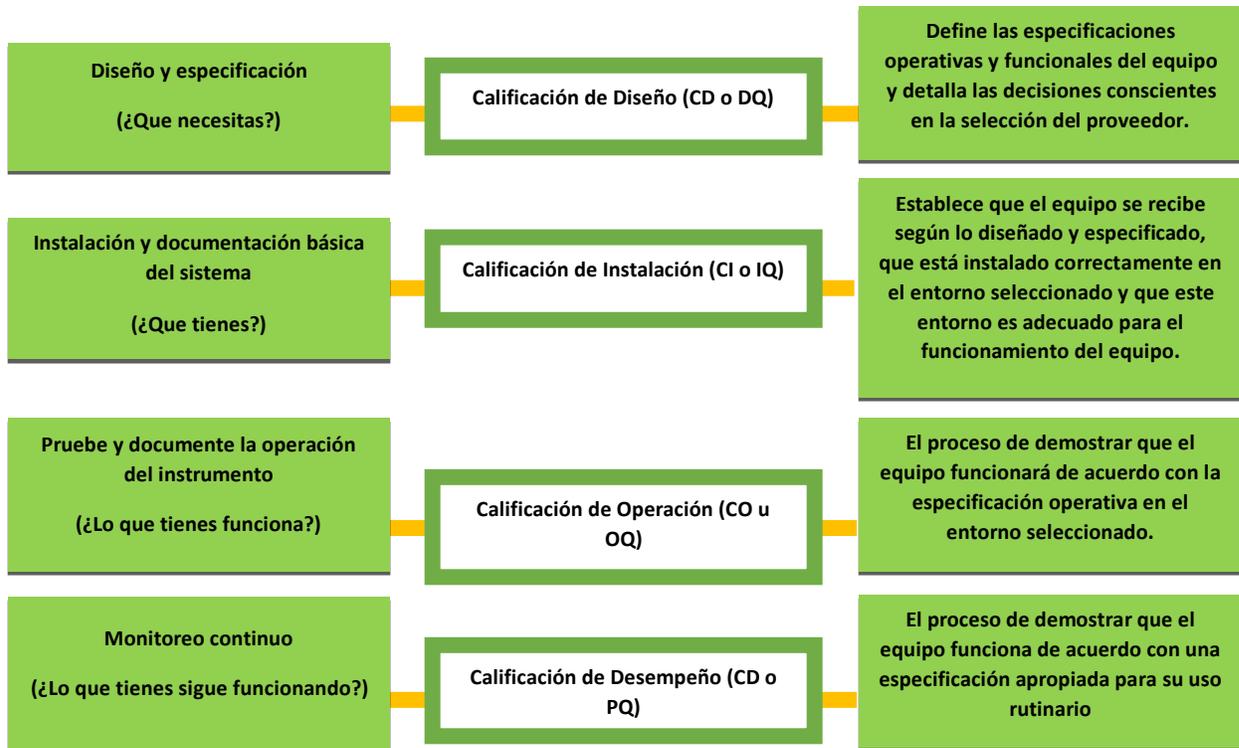


Figura 11. Etapas de calificación de un equipo. Fuente: Extraído de Bedson y Sargent, (1996).

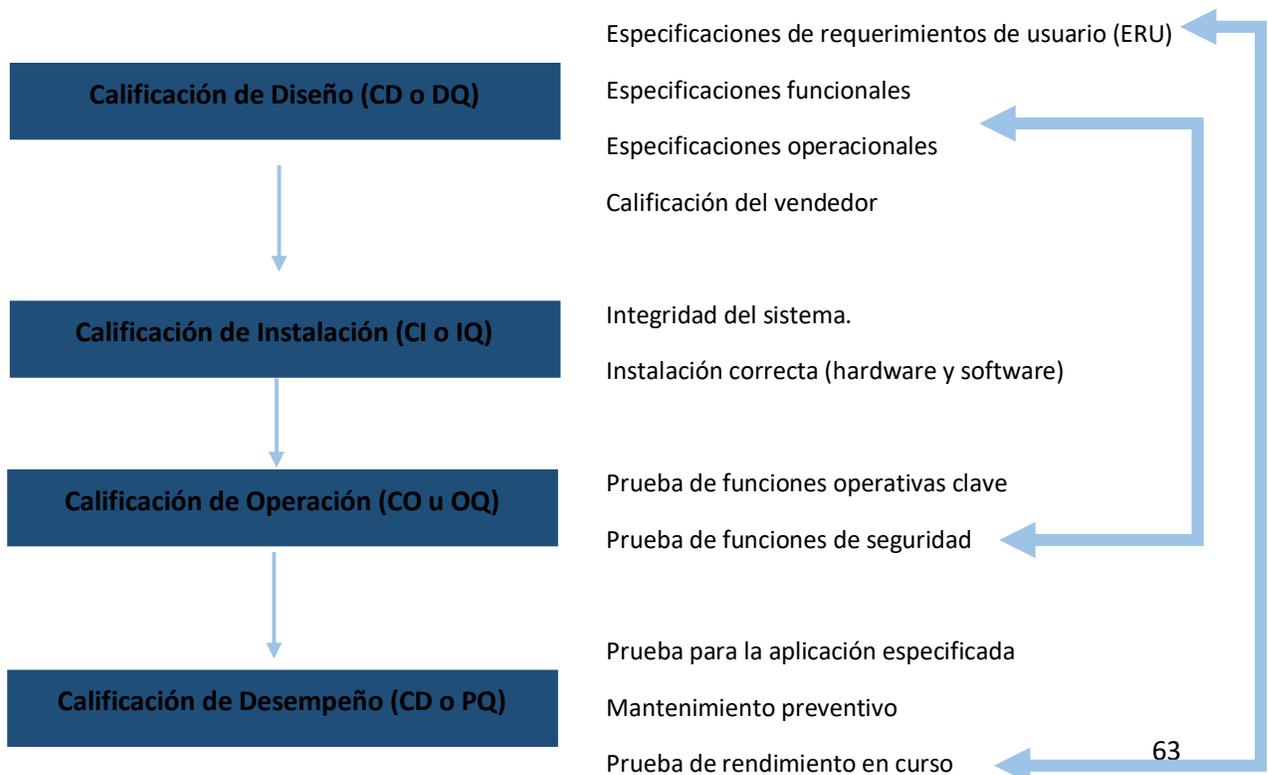


Figura 12. Relación de las 4 fases de calificación de un equipo. Fuente: Extraído de Winter, (2006).

A continuación se ejemplificara el ERU de un equipo de ultracongelación del área de Biotecnología, el cual fue una actividad realizada durante la estancia laboral en Landsteiner Scientific, dicho equipo se ocupa para almacenar API, medios de cultivo, estándares, entre otros.

Elaboración de los requerimientos de usuario del equipo de ultracongelación Thermo Scientific

Objetivo: Contar con un equipo de almacenamiento y resguardo seguro a largo plazo de muestras, insumos y principio activo con la finalidad de mantener la calidad del producto.

Equipo: Ultracongelador marca Thermo Scientific

Área: Se coloca el área y nombre del cuarto donde se encuentra el equipo.

Justificación: Los congeladores de Biotecnología tienen un alcance de -10 a -25 °C lo cual no permite la preservación de algunos insumos, líneas celulares o API que requieren una temperatura optima de -70°C, por lo que adquirir un ultracongelador con un alcance de hasta -70°C permitirá mantener la calidad del producto y cumplir con las normas establecidas

Cumplimiento normativo: El sistema computarizado debe de cumplir con la NOM-059-SSA-1-2015 “Buenas prácticas de fabricación de medicamentos”

Descripción de los requerimientos de usuario:

- **Servicios requeridos para el funcionamiento del equipo**

ERU-001. La alimentación de energía eléctrica debe ser de un voltaje de potencia con un consumo de 127 V \pm 10% y una frecuencia 60 Hz.

- **Dimensiones máximas del equipo, considerando el área donde será instalado**

ERU-002. El equipo debe estar diseñado de tal forma que no sobre pase el espacio máximo que se tiene disponible

- Lado derecho: 15 cm
- Lado izquierdo: 15 cm

- Parte frontal: Puerta cerrada 40 cm, Puerta abierta 80 cm
- Parte posterior: 10 cm

ERU-003. El equipo debe contar con las siguientes medidas internas:

- Ancho: 56.5 cm.
- Alto: 128.5 cm.
- Profundo: 70.5 cm

- **Materiales de construcción. (Partes que están en contacto con el producto y partes sin contacto con el producto)**

ERU-004. El equipo interior del equipo debe estar construido de acero inoxidable

ERU-005. El exterior del equipo debe estar construido de plástico resistente a temperaturas bajas

- **Condiciones de Proceso**

ERU-006. La capacidad máxima que el equipo debe tener es de 548 L.

ERU-007. La temperatura de operación del equipo debe contar con un alcance de -70 ± 10 °C.

- **Instrumentación y Requerimientos de Calibración**

ERU-008. El equipo debe contar con un sensor de temperatura con alcance de -70 ± 10 °C.

- **Sistema de control**

ERU-009. El equipo debe contar con un sistema capaz de dar mediciones de temperatura en un panel de control para su monitoreo.

- **Requerimientos Documentales**

ERU-010. El equipo debe contar con manuales de instalación y/o operación, programas de mantenimiento preventivos del equipo

ERU-011. El equipo debe contar con procedimientos normalizados de operación y limpieza del equipo y bitácora de operación y limpieza

- **Requerimientos de Seguridad, Higiene y Ambiental**

ERU-012. El equipo debe estar equipado con interruptor principal ON/OFF, el cual permita detener el equipo en casos de emergencia.

ERU-013. El equipo debe contar con un sistema de seguridad que permita abrir y cerrar la puerta con llave

ERU-014. El equipo debe contar con alarmas que indiquen las condiciones en las que se encuentra, entre ellas: alarma sonora y visual cuando la puerta se encuentre entre abierta, alarma sonora y visual cuando exista fallo eléctrico, alarma sonora y visual cuando salga del rango de las condiciones de temperatura establecidas.

ERU-015. El usuario debe portar su equipo de protección personal que indique el PNO del área

- **Requerimientos adicionales**

ERU-016. La temperatura ambiente del área requerida debe estar entre 4° -25°C

ERU-017. El equipo debe contar con un voltaje de entrada de 120 V ± 10%

ERU-052. El equipo debe contar con una fuente de energía ininterrumpida UPS

El objetivo de este apartado es dar a conocer la importancia y los lineamientos generales que se deben de tomar en cuenta al ejecutar la calificación de equipos en la industria farmacéutica, con base a la NOM-059-SSA1-2015, que establece que todos los equipos que impacten directamente en la calidad, seguridad y eficacia del producto deben de estar calificados previamente. Así como el ejemplificar los aspectos que se deben de incluir en los Requerimientos de Usuario (ERU) para un equipo de ultracongelación con el que cuenta el área de Biotecnología para almacenar API, medios de cultivo, estándares, entre otros, actividad realizada durante la estancia laboral en Landsteiner Scientific. Dicho documento es pieza fundamental para iniciar la calificación del equipo, sin embargo la Calificación de Diseño (DQ), Calificación de Instalación (IQ), Calificación de Operación (OQ) y Calificación de Desempeño (PQ), no tienen alcance en este trabajo ya que esa actividad está a cargo del departamento de Validación de Landsteiner Scientific.

Validación de sistemas computarizados en la industria farmacéutica

A partir de 2016 en México la COFEPRIS empezó a solicitar la validación de sistemas computarizados (CSV), por lo que el objetivo de esta actividad es describir el proceso de CSV que impacten en la seguridad, calidad y eficacia del producto con base a la NOM-059-SSA1-

2015, que establece que todos los sistemas computarizados deben estar validados, así como demostrar que los registros electrónicos que generen estos, son confiables, se encuentran protegidos, no son alterables o bien existen mecanismos que registran que si fueron modificados (Auditoria de rastreo o “Audit trail”).

Un sistema computarizado se define como: “Grupo de componentes de hardware y software asociados y diseñados para desarrollar una función específica o un grupo de funciones”. Las regulaciones actuales requieren la validación de sistemas computarizados que son utilizados para controlar equipos de laboratorio o procesar datos (Bedson y Sargent, 1996; Sigvardson, *et. al.*, 2001; Winter, 2003; Winter, 2006; Corbillón, *et. al.*, 2020). Por lo que los sistemas que adquieren, procesan o almacenan datos también tienen requisitos adicionales definidos por normas relacionadas con las BPF o GMP como: el título 21 del Código de Reglamentaciones Federales (CFR, Code of Federal Regulations), parte 11 de la FDA; el anexo 11 “Computerised Systems” (Sistemas computarizados) de GMP de la Unión Europea, publicado por la EMA; las Buenas prácticas de fabricación automatizadas (Good Automated Manufacturing Practice, GAMP5); NOM-059-SSA1-2015 apartado 9.13 “Validación de sistemas computacionales”; entre otras. Las cuales exponen los diferentes controles que pueden utilizarse en el momento de crear y almacenar los datos electrónicos, generados por los sistemas computarizados, usados en la documentación exigida por las BPF (Winter, 2006; Juárez, 2012; Suazo, 2012; López, 2019; Corbillón, *et. al.*, 2020; Julio, 2020).

De acuerdo a la FDA, los riesgos de falsificación, malinterpretación y cambio (sin dejar evidencia) en el ambiente de las BPF son mayores con registros electrónicos que con registros en papel. Debido al auge de la introducción de nuevas tecnologías en la industria farmacéutica y la creciente digitalización de los procesos, cada día se emiten más reglamentos con respecto a la integridad de los datos. En términos regulatorios en la industria farmacéutica, el término “integridad de los datos” está asociado a que los datos cumplan con los requisitos de ALCOA. Es decir, que sean; atribuibles, legibles, contemporáneos, originales y precisos y más recientemente surge ALCOA + donde se incorporan nuevos conceptos como: disponibles, duraderos, consistentes y completos

(Winter, 2006; Juárez, 2012; Suazo, 2012; López, 2019; Corbillón, *et. al.*, 2020), Fig. 20. Dicho esquema es importante de conocer y entender, ya que ayuda a comprender los aspectos y conceptos que se deben cumplir para asegurar la integridad de la información (resultados de análisis para liberación de materia prima, producto terminado, material de envase y empaque, entre otras) manejada por todas las industrias que cuenten con sistemas computarizados, ya que garantiza que ningún dato o información haya sido manipulado en caso de que no cumpla con los parámetros establecidos por la entidad regulatoria correspondiente.



Figura 13. Esquema de ALCOA+. Principios de ALCOA + que se deben cumplir para garantizar la integridad de los datos. Fuente: Extraído de Corbillón, *et. al.*, (2020).

Los sistemas computarizados que realizan una función dentro del proceso de producción y los procedimientos utilizados para documentar la calidad del proceso, tienen que ser fiables y estar validados. Antes de comenzar la validación del sistema computarizado el usuario debe de evaluar y gestionar los riesgos relacionados al mismo. Debido a que este enfoque basado en riesgos ayuda a la industria, proveedores y agencias regulatorias a concentrar los recursos en temas críticos para la salud pública y la seguridad del consumidor, al tiempo que adopta las innovaciones realizadas en la industria farmacéutica. El objetivo de la evaluación de riesgos es el análisis y evaluación de los riesgos vistos desde un ángulo específico, como el riesgo para el consumidor y el riesgo comercial para una empresa, determinando si los datos son críticos, es decir si tienen relevancia o no, para demostrar el cumplimiento de las BPF, así como las potenciales ocurrencias de falla (Winter, 2006; Juárez, 2012; Suazo, 2012; López, 2019; Corbillón, *et. al.*, 2020).

Las evaluaciones de riesgos dan como resultado un "registro de riesgos" junto con una clasificación de cada riesgo particular. La clasificación generalmente asigna una gravedad de riesgo en función de su impacto (impacto alto, medio o bajo en el esfuerzo requerido para cumplir el objetivo definido) y su probabilidad de que ocurra (alto si la probabilidad es mayor al 60%, bajo si es menor que 10%). Mientras que la tarea de la gestión de riesgos es definir cómo los riesgos identificados se pueden controlar y minimizar o compensar (Winter, 2006; Juárez, 2012; Suazo, 2012; López, 2019; Corbillón, *et. al.*, 2020; Julio, 2020).

Por lo que se hace hincapié en que el enfoque de la validación tiene que basarse en una evaluación de los riesgos, justificada y documentada, como las que se muestran en la Fig. 14, dichas herramientas sirven para evaluar los riesgos que pueden tener los procesos, equipos computarizados o equipos. Permitiendo al usuario buscar soluciones (creación de bitácoras, listados, formatos, entre otros) para mitigar los potenciales riesgos, ya que es un hecho que siempre van a existir pero en menor frecuencia y menor impacto.

El uso de la estimación del riesgo tiene que ser el elemento clave para decidir la extensión y profundidad del proceso de validación, teniendo en cuenta el uso previsto del sistema, la

compresión del proceso y el potencial del sistema para afectar la seguridad del paciente, calidad del producto y la integridad de los datos (Winter, 2006; Juárez, 2012; Suazo, 2012; López, 2019; Corbillón, *et. al.*, 2020; Julio, 2020).

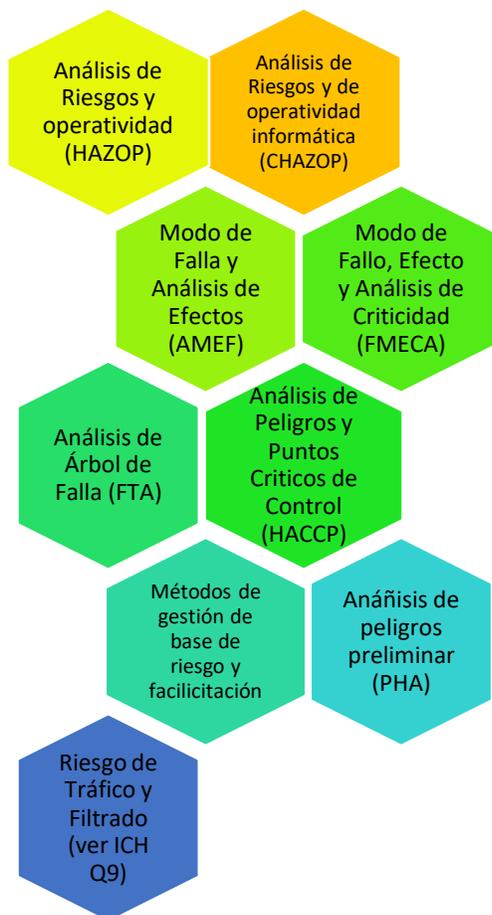


Figura 14. Metodologías de evaluación de riesgos para la validación de sistemas computarizados. Fuente: Extraído de Corbillón, *et. al.*, (2020).

Existen cinco tipos principales de impactos a considerar para los sistemas Computarizados, estos deberán de evaluarse tanto en los análisis de riesgos iniciales al sistema como para los posteriores análisis de riesgos. Algunos ejemplos de riesgos que impactan en las Buenas prácticas (Fabricación, Laboratorio, Documentación, entre otras) (Juárez, 2012; Suazo, 2012; López, 2019; Corbillón, *et. al.*, 2020; Julio, 2020):

1. Seguridad del Paciente: tienen este tipo de impacto los sistemas que liberan productos o gestionan información para uso del paciente (lote, instrucciones,

caducidad), por ejemplo, HPLC, software de codificadora, electroforesis capilar, fotodocumentadores, RT-PCR, Cámaras climáticas, entre otras.

2. Calidad del Producto: sistemas con este tipo de impacto participan directamente en la fabricación o en la evaluación de parámetros críticos, por ejemplo, espectro IR (Infrarojo), TOC (Carbono Orgánico Total), PLC (Controlador Lógico Programable) de una autoclave, tableteadoras, encapsuladoras etc.
3. Integridad de Datos: Los sistemas ERP (Planificación de recursos empresariales), Sistemas de control de Inventarios, Sistemas de Gestión Documental, etc.
4. Cumplimiento regulatorio: Sistemas de control del SGC (Sistemas de Gestión de Calidad), hojas de cálculo donde se controlen los planes de capacitación o de mantenimiento, bitácoras electrónicas, etc.
5. Políticas internas: Sistemas que gestionan la calificación del personal, sistemas de seguridad, etc.

Una vez elaborado el análisis de riesgo correspondiente se procede a la Validación del Sistema Computarizado (CSV) el cual es un proceso documentado para asegurar que un sistema informatizado hace exactamente aquello para lo cual fue diseñado de una manera consistente y reproducible (adecuación al uso), garantizando la integridad y seguridad de datos, la calidad del producto y cumpliendo con Buenas Prácticas aplicables (Fabricación, Laboratorio, Documentación, entre otras), demostrando de forma robusta y con pruebas documentadas que el sistema es adecuado al uso previsto y que hace aquello para lo que fue diseñado, con la certeza de que el resultado o el producto final tendrán la calidad esperada) (Juárez, 2012; Suazo, 2012; López, 2019; Corbillón, *et. al.*, 2020; Julio, 2020).

Así como la validación de equipos, los sistemas computarizados se basan en 4 etapas de validación: calificación de diseño (DQ); calificación de instalación (IQ); calificación operación (OQ); y calificación de desempeño (PQ) (Juárez, 2012; Suazo, 2012; López, 2019; Corbillón, *et. al.*, 2020; Julio, 2020).

- Calificación de Diseño (DQ)
- Calificación de Instalación (IQ)

- Calificación de Operación (OQ)
- Calificación de Desempeño (PQ)

De acuerdo a la NOM-059, CFR 21 parte 11 y GAMP5 los puntos que debe de cumplir el sistema computarizado son:

1. Uso de verificaciones de autoridad para comprobar la autorización de los usuarios para realizar ciertas funciones (derechos de acceso de usuario configurables basados en la capacitación y la responsabilidad laboral).
2. Limitar el acceso del sistema a personas autorizadas (políticas de seguridad, tiempo de inactividad, políticas de contraseña (fuerza, tiempo en el que expira, bloqueo de cuenta, etc.).
3. Uso de verificaciones de dispositivos para verificar la validez de la fuente de entrada (monitoreo de redes, libros de registro de instrumentos).
4. Uso de verificaciones del sistema operativo que imponen la secuencia de pasos permitidos (imponen el proceso de revisión de resultados (revisión de análisis, revisión por pares, aprobación de control de calidad; ejecución de cálculos y / o cálculos personalizados como parte de un método del sistema de datos sin transcribir manualmente los resultados a otro programa).
5. Requisitos relacionados con las firmas electrónicas (revisión electrónica y rechazos o aprobación de resultados, cierre electrónico para funciones críticas del sistema).

La adecuación del uso se demuestra mediante el cumplimiento de todos los Requisitos / Requerimientos obligatorios establecidos. Como los requisitos son directamente trazables al protocolo de Calificación de Ejecución o Desempeño (CE o PQ) e indirectamente trazables al protocolo de Calificación de Instalación (CI o IQ) y al protocolo de Calificación de Operación (CO o OQ) (a través de las especificaciones funcionales y de diseño respectivamente, mismas que sirven para dar cumplimiento a los requisitos), es al término satisfactorio de la CE que podemos afirmar que se cumple con la adecuación al uso (Juárez, 2012; Suazo, 2012; López, 2019; Corbillón, *et. al.*, 2020; Julio, 2020).

El siguiente apartado tiene como objetivo ejemplificar los aspectos que se deben incluir en el Modo de Falla y Análisis de Efectos (AMEF), Requerimientos de Usuario (ERU) y Especificaciones Funcionales (EF) del sistema computarizado 32 Karat[®] / PA 800 plus[®], actividades realizadas durante la estancia laboral en Landsteiner Scientific. Dicha documentación es pieza fundamental para iniciar la validación del sistema computarizado, sin embargo la Calificación de Diseño (DQ), Calificación de Instalación (IQ), Calificación de Operación (OQ) y Calificación de Desempeño (PQ), no tienen alcance en este trabajo ya que esa actividad está a cargo del departamento de Validación (Sistemas computarizados) de Landsteiner Scientific.

Elaboración del Modo de Falla y Análisis de Efectos (AMEF) del sistema computarizado 32 Karat[®] / PA 800 plus[®]

El objetivo de realizar el AMEF del sistema computarizado 32 Karat[®] / PA 800 plus[®], fue evaluar y analizar los riesgos con los que puede contar dicho sistema, para determinar si los datos son críticos y encontrar las potenciales ocurrencias de falla. Las cuales pueden impactar en la seguridad del paciente, calidad del producto e integridad de los datos de los productos analizados en el área de Biotecnología. A continuación se representa el AMEF realizado del sistema computarizado 32 Karat[®] / PA 800 plus[®], ver Tabla 8.

Tabla 8. Modo de Falla y Análisis de Efectos (AMEF) del sistema computarizado 32 Karat ® / PA 800 plus.

<i>Nombre:</i> Evaluación de seguridad de información del sistema computarizado 32 KARAT® / PA 800 PLUS® del Electroforesis Capilar									
<i>Aplicable a:</i>	Sistema computarizado								
<i>Proceso</i>	<i>Identificación del Riesgo</i>				<i>Evaluación del riesgo</i>			<i>Control de Riesgo</i>	
	Modo Potencial de Falla	Efecto Potencial de la Falla	Causas Potenciales	Controles	S	O	D	Probabilidad de riesgo (S x O x D)	Acción de Mitigación
<i>Integridad de la información del sistema computarizado</i>	No se realicen los respaldos de información	Datos incompletos/ Perdida de trazabilidad de la información.	No se cuenta con procedimiento de cómo realizar la actividad.	Se cuenta con PNO que indica cómo se deben de realizar los respaldos.	1	1	2	2	No aplica
	Frecuencias de respaldo erróneo	Mayor probabilidad de pérdida de información.	No se cuenta con un programa que indique la periodicidad de frecuencia de respaldos.	No se cuenta con control.	1	2	2	4	Se actualizará PNO y programa que indique la periodicidad de respaldo de información y revisión de auditoría de rastreo
	Perfiles de usuarios no definido.		Perfiles de usuarios no definido.	Se cuenta con ERU que indica privilegios y permisos de cada usuario	2	1	2	4	No aplica
	Permisos de usuarios no acorde con las responsabilidades	Uso incorrecto del sistema.	Usurpación de usuario	Se cuenta con formato que indica que se debe de revisar la no exista de usurpación de usuarios	2	1	1	2	No aplica
			Falta de control de cuentas de usuarios.	Se cuenta con un listado de usuarios activos del sistema,	2	1	1	2	No aplica

<i>Seguridad lógica del sistema computarizado.</i>			Asignación de usuarios incorrecta.	un PNO que indica que se deben asignar ID y contraseñas a los usuarios así como la asignación de usuarios.	2	1	1	2	No aplica
	El software no se bloquea después de 5 minutos		El software no cuenta con políticas de seguridad robustas.	Se cuenta con el ERU, el cual indica que el sistema operativo se debe de bloquear después de 5 minutos.	1	1	1	1	No aplica
	El software no se bloquea después de introducir erróneamente 3 veces la contraseña o usuario.	El sistema no cuenta con seguridad lógica o parámetros de seguridad.	El software no cuenta con políticas de seguridad robustas.	Se cuenta con ERU, el cual indica que el sistema operativo debe bloquear a los usuarios después de ingresar 3 veces el ID o contraseña incorrecta.	1	1	1	1	No aplica
	Uso indebido del sistema		El personal asignado para su uso no está capacitado	Se cuenta con PNO, el cual indica la operación del equipo. Así como una bitácora en la que se registra la actividad y la persona que realizó la actividad.	1	2	1	2	No aplica

S: Severidad (3 significa riesgo alto, 2 significa riesgo medio y 1 significa riesgo bajo), O: Ocurrencia (significa riesgo alto, 2 significa riesgo medio y 1 significa riesgo bajo), D: Detectabilidad (3 significa riesgo alto, 2 significa riesgo medio, 1 significa riesgo bajo) y Probabilidad de riesgo (1-3 significa riesgo bajo, 4-11 significa riesgo medio y de 12-27 significa riesgo alto).

Una vez elaborado el AMEF del 32 Karat[®] / PA 800 plus[®] se prosigue a la elaboración de los requerimientos de usuario (ERU), los cuales se describen a continuación:

Elaboración de los requerimientos de usuario del sistema computarizado 32 Karat[®] / PA 800 plus[®]

Objetivo: Determinar los requerimientos de usuario (ERU) y especificaciones funcionales (EF) y, del sistema computarizado 32 KARAT[®]/ PA 800 Plus[®] que se encuentra acoplado al equipo de electroforesis capilar.

Sistema computarizado: Software 32 Karat[®] / PA 800 Plus[®] del Sistema de Electroforesis Capilar

Área: Se coloca el área y nombre del cuarto donde se encuentra el sistema computarizado.

Uso del sistema: El software 32 KARAT[®] se ocupa para la manipulación del equipo de electroforesis capilar, análisis y procesamiento de datos. Mientras que el PA 800[®] es un software interactivo que funge como manual de usuario para manipular el equipo de electroforesis capilar, además, permite el entrenamiento de personal que recién empieza a ocupar el equipo.

Justificación: El sistema computarizado controla y analiza los parámetros del equipo para la ejecución de protocolos, análisis, almacén y procesamiento de datos y registros electrónicos. Dichos parámetros son importantes para el análisis de principios activos, insumos o medicamentos biotecnológicos con diferentes metodologías como: punto isoeléctrico, determinación de isoformas, entre otros.

Cumplimiento normativo: El sistema computarizado debe de cumplir con la NOM 059 SSA 1-2015 “Buenas prácticas de fabricación de medicamentos”, y en caso de que aplique con CFR 21 parte 11 de la FDA.

Descripción de los Requerimientos de usuario:

- **Documentación de sistema:**

ERU-001. El sistema debe contar con manuales de instalación y/o operación, programas de mantenimiento del equipo, respaldo de información y mantenimiento al equipo de cómputo.

ERU-002. El sistema debe contar con procedimientos de operación del equipo y administración del sistema, bitácora de operación, procedimiento de revisión de audit trail y respaldo de información y listados de usuarios actualizados.

- **Hardware:** En este apartado se colocan todos los elementos físicos que constituyen una computadora como:

ERU-003. El sistema debe contar con una computadora marca “Lenovo®”, modelo “Think Centre M81”

ERU-004. El sistema debe contar con un procesador “Core”, un disco duro de “320 GB” capacidad, una memoria RAM de “4 GB”

ERU-005. El sistema debe contar con un módulo detector UV

ERU-006. El sistema debe contar con un módulo detector matriz de diodos

ERU-007. El sistema debe contar con un sistema de análisis farmacéutico PA 800 Plus ®

- **Software:** aquí se describe el programa con el que cuenta la computadora del electroforesis capilar.

ERU-008. El sistema debe contar con un software 32 KARAT ® versión “10.1”

ERU-009. El sistema debe contar con un software PA 800 Plus ® versión “10.1.44”,

ERU-010. El sistema debe contar con un sistema operativo (Windows 7, Windows 10, etc.), que sea compatible con la versión de los softwares antes mencionados

- **Interfaces con el sistema computarizado:** en este apartado se colocan las interfaces que se definen como: dispositivo capaz de transformar las señales generadas por un aparato en señales comprensibles por otro.

ERU-011. El sistema debe contar con una impresora

ERU-012. El sistema debe contar con un CONTROLLER GPIB-USB-HS que conecta el equipo de cómputo Vs el PA 800 Plus ®.

- **Seguridad física y lógica:** en este apartado la seguridad física se refiere a que si el equipo es de “fácil” acceso para cualquier persona

ERU-013. El acceso donde se encuentra el sistema es restringido y solo con acceso a personal autorizado y capacitado para su uso.

Mientras que la seguridad lógica se refiere a todos los puntos con los que el software cuenta para que no sea violado como:

ERU-014. El sistema no debe permitir modificar la fecha y hora del equipo de cómputo

ERU-015. El sistema operativo debe contar desplegar una pantalla inicial donde se ingrese usuario y contraseña

ERU-016. El software debe desplegar una pantalla para ingresar usuario y contraseña

ERU-017. El sistema debe contar con niveles de usuario

ERU-018. El sistema debe permitir al “Administrador” del sistema crear, borrar cuentas de usuarios

ERU-019. El sistema debe permitir al “Administrador” la asignación de privilegios a los usuarios

ERU-020. El sistema debe mostrar la contraseña encriptada

ERU-021. El sistema no debe permitir la duplicidad o repetición de nombres de usuarios

ERU-022. El sistema operativo y el software no deben permitir ingresar al usuario con usuario y/o contraseña incompleta

ERU-023. El “Administrador” es el único capaz de restablecer o asignar una nueva contraseña si el usuario la bloquea

ERU-024. El sistema debe bloquear al usuario después de 3 intentos fallidos

ERU-025. El sistema debe bloquearse y solicitar la contraseña de usuario después de una inactividad del sistema máximo de 5 minutos

ERU-026. El sistema debe mandar un mensaje de vigencia cuando la contraseña ha expirado

- **Registros electrónicos:** En este apartado se debe colocar cualquier combinación de texto, gráficos, datos, audio, imagen o representación de otra información en forma digital que se crea, modifica, mantiene archivada, recuperada o distribuida por el sistema computarizado.

ERU-027. El sistema debe permitir generar registros electrónicos de los métodos guardados

ERU-028. El sistema debe permitir generar los reportes de resultados de los análisis ejecutados

- **Configuración.** En este apartado se coloca todas las configuraciones aplicables en el software sistema operativo

ERU-029. Con el perfil de “Administrador” el sistema debe permitir establecer la vigencia de la contraseña para que expire en 90 días

ERU-030. Con el perfil de “Administrador” el sistema debe permitir establecer el bloqueo de la cuenta del usuario después de 3 intentos fallidos

ERU-031. Con el perfil de “Administrador” el sistema debe permitir que la cuenta de usuario se bloquee después de 5 minutos de inactividad

- **Integridad, respaldo y recuperación de datos.**

ERU-032. El sistema operativo debe permitir el respaldo de toda la base de datos del mismo

ERU-033. El software debe contar con un plan de recuperación de los datos en caso de desastre

- **Auditoría de datos**

ERU-034. El sistema debe contar con una función llamada “Audit trail” / Auditoría de datos o similar, la cual proporcione información de la actividad de los usuarios, configuración del software, indicar cuando se eliminan datos, indicar modificación de parámetros, indicar el usuario que realiza las actividades así como fecha y hora en la que se realizó la actividad

ERU-035. El sistema debe permitir exportar el reporte de “Audit trail”

- **Firmas electrónicas.** En este apartado se debe colocar si el sistema cuenta con firmas electrónicas, las cuales se definen como la recopilación de datos informáticos de cualquier símbolo o una serie de símbolos ejecutados, aprobados o autorizados por individuo, siendo el equivalente jurídicamente a la firma manuscrita de la persona.

ERU-036. El sistema debe de contar con firmas electrónicas (en caso de que aplique)

- **Alertas, alarmas o mensajes**

ERU-037. El sistema debe mostrar mensaje de alarma al ingresar con usuario erróneo y contraseña errónea

ERU-038. El sistema debe mostrar mensajes cuando se ingresen parámetros (voltaje, temperatura, presión, entre otros) fuera de rango en el método, condiciones iniciales

- **Requerimientos de Operación.** En este apartado se describen todas las funciones del software OCUPADAS por los usuarios, ya que un software puede tener muchas funciones pero no se ocupan debido a los análisis ejecutados en el laboratorio.

ERU-039. El sistema debe permitir el ingreso al software PA 800 Plus[®] para consultar el funcionamiento del 32 KARAT[®]

ERU-040. El sistema debe permitir ingresar a cualquier nivel de usuario al software PA 800 Plus[®] y al 32 KARAT[®]

ERU-041. El sistema debe permitir el cierre a cualquier nivel de usuario del software PA 800 Plus[®] y al 32 KARAT[®]

ERU-042. El sistema debe permitir en cualquier momento visualizar los datos registrados

ERU-043. El sistema debe permitir la creación y modificación de métodos

ERU-044. El sistema debe permitir ajustar las condiciones de voltaje, temperatura y presión durante la creación del método

ERU-045. El sistema debe permitir el inicio o para del sistema

ERU-046. El sistema debe permitir seleccionar el detector a utilizar

ERU-047. El sistema debe permitir generar los reportes

ERU-048. El sistema debe permitir la impresión de los reportes

- **Otros.** En este apartado se colocan los requerimientos necesarios que no estén relacionados al software como:

ERU-049. La temperatura del área requerida debe estar entre 15°- 30 ° C

ERU-050. La humedad del área requerida para el correcto funcionamiento del sistema computarizado debe ser $\leq 70\%$

ERU-051. El sistema debe contar con un voltaje de entrada de 120 V $\pm 10\%$

ERU-052. El sistema debe contar con una fuente de energía ininterrumpida UPS

Una vez que son elaborados y aprobados los ERU del 32 Karat[®] / PA 800 plus[®], se prosigue a la elaboración de las especificaciones funcionales del sistema computarizado, las cuales se describen a continuación:

Especificaciones funcionales (EF) del sistema computarizado 32 Karat[®] / PA 800 plus[®]

Una vez concluidos los requerimientos de usuario del sistema computarizado 32 KARAT[®], se prosigió a elaborar las especificaciones funcionales (EF), las cuales tienen como objetivo detallar paso a paso cómo se llega a la acción establecida en el ERU.

Objetivo: Determinar las especificaciones funcionales (EF) y, del sistema computarizado 32 KARAT[®]/ PA 800 Plus[®] que se encuentra acoplado al equipo de electroforesis capilar.

Descripción del sistema:

El software PA 800 Plus[®] incluye el software 32 KARAT. El software del 32 KARAT[®] está diseñado para ser utilizado como un controlador de punto único para los sistemas Beckman Coulter PA 800 Enhanced[®] y PA 800 Plus[®] y como un sistema de datos de cromatografía general para los instrumentos de CE que suministran salidas de datos analógicas (Beckman, 2014)

El equipo PA 800 Plus[®] separa los componentes de la muestra dentro de un capilar de sílice fundido, utilizando uno de los varios métodos de electroforesis. Todos estos métodos se conocen generalmente como Electroforesis Capilar (EC). En el PA 800 Plus[®], la muestra se

inyecta mediante presión, vacío o voltaje. Bajo la influencia de un campo eléctrico, los componentes de la muestra migran diferencialmente a través del capilar. Hay dos métodos básicos para detectar muestras utilizando EC. La primera es absorbancia de luz, la cual utiliza la detección de rayos UV (Ultravioleta) y PDA (matriz de fotodiodos). A medida que estos componentes pasan por una ventana en el capilar, un detector UV de longitud de onda única o un detector de matriz de fotodiodos de múltiple longitud de onda (PDA), miden la absorbancia y transmiten la señal a la computadora. La señal puede representarse gráficamente en forma de electroferograma y analizarse. El segundo método es introducir las muestras a fluorescencia y medir la luz emitida, Esto se hace mediante fluorescencia inducida por láser (LIF). Se detectan sustancias en el capilar que emiten fluorescencia en la longitud de onda del láser. El detector LIF mide y registra fluorescencia, que aparece como un pico en la pantalla de la computadora o en el electroferograma impreso (Beckman, 2014).

El instrumento PA 800 Plus® se puede usar para separar muchos tipos de muestras diferentes, incluidos péptidos, proteínas, ácidos nucleicos, iones, enantiómeros y productos farmacéuticos. La CE tiene requisitos de muestra muy bajos en relación con otras técnicas analíticas (50 microlitros, con un volumen de inyección real normalmente entre 5 y 50 nanolitros) (Beckman, 2014).

Tabla 9

Especificaciones Funcionales del sistema computarizado 32 Karat ® / PA 800 plus ®.

Interfaces con el sistema computarizado		Referencia de ERU
EF-001	El sistema cuenta con un CONTROLLER GPIB-USB-HS (Equipo de cómputo Vs PA 800 Plus®)	ERU-011
EF-002	El sistema cuenta con una impresora en red por medio de una conexión inalámbrica	ERU-012
Control de acceso al sistema computarizado		Referencia de ERU
EF-003	Seguridad física El acceso donde se encuentra el sistema es restringido y solo con acceso a personal autorizado y capacitado para su uso.	ERU-013
EF-004	Fecha y hora bloqueadas por el equipo: Los usuarios con perfiles diferentes al "Administrador" de Windows, no pueden modificar la hora y fecha del equipo de cómputo Inicio de Windows > Seleccione usuario e ingrese contraseña > Acceder a la opción "Cambiar la configuración de la fecha y hora" > Menaje de que no permite cambiar la hora o fecha	ERU-014
EF-005	Inicio desde el sistema operativo:	ERU-015

	Al encender el equipo de computo donde está instalado el software, el sistema operativo solicita la contraseña una vez que se selecciona el usuario	
EF-006	<p>Inicio de sesión en el software</p> <p>El sistema visualiza una pantalla para acceder con los siguientes requerimientos: usuario/contraseña:</p> <p>Coloque físicamente el detector a ocupar en el PA 800 Plus® > Inserte la licencia del software > Ingrese contraseña del usuario > Seleccione el icono del software > Ingrese usuario y contraseña > Seleccione "Login"</p>	ERU-016
EF-007	<p>Creación de usuarios</p> <p>Para la creación de perfiles en Windows, siga lo siguiente:</p> <p>Ingrese con usuario y contraseña de administrador de Windows > ingrese al icono "Iniciar" de Windows > Panel de control > Herramientas administrativas > Gestión de la computadora > Usuarios y grupos locales > Usuarios > Pulse clic derecho > Nuevo usuario > Rellene los campos con la información del usuario > Crear</p> <p>Eliminación de usuarios</p> <p>Para la eliminación de perfiles en Windows, siga lo siguiente:</p> <p>Ingrese con usuario y contraseña de Administrador de Windows > ingrese al icono "iniciar" de Windows > Panel de control > Herramientas administrativas > Gestión de la computadora > Usuarios y grupos locales > Usuarios > seleccione el usuario que dese eliminar > clic derecho > eliminar o borrar > si</p>	ERU-018
EF-008	<p>Contraseña encriptada</p> <p>Al ingresar al sistema operativo o software , está aparece de forma encriptada</p>	ERU-020
EF-009	<p>Duplicidad de usuario</p> <p>Al dar de alta un nuevo usuario con el mismo nombre, el sistema no permitirá la duplicidad de usuario y se visualizará lo siguiente:</p> <p>Ingrese al icono "Iniciar" de Windows > Panel de control > Herramientas administrativas > Gestión de la computadora > Usuarios y grupos locales > Usuarios > Pulse clic derecho > Nuevo usuario > Ingrese nombre de usuario ya dado de alta > aparecerá una ventana emergente con el siguiente mensaje "La cuenta ya existe"</p>	ERU-021
EF-010	<p>Contraseña incompleta</p> <p>El sistema operativo y el software no permiten ingresar con usuario y/o contraseña errónea</p>	ERU-022
EF-011	<p>Bloqueo de sesión por contraseña incompleta</p> <p>El sistema operativo deshabilita la pantalla de acceso y bloquea al usuario después de 3 intentos sin éxito para acceder, arrojando un mensaje "La cuenta seleccionada actualmente se encuentra bloqueada y no podrá ingresar"</p>	ERU-024
EF-012	<p>Inactividad del sistema</p> <p>El sistema operativo bloquea al usuario después de 5 minutos de inactividad del sistema, por lo que si el usuario quiere ingresar de nuevo al sistema debe ingresar su contraseña de nuevo</p>	ERU-025
EF-013	<p>Mensaje de expiración de contraseña</p> <p>El sistema operativo muestra un mensaje de que la contraseña ha expirado pasados los 90 días después de haber registrado la contraseña, solicitando al usuario registrar otra contraseña</p>	ERU-026
Integridad, respaldo y recuperación de datos		Referencia de ERU
EF-014	Respaldo y recuperación de la información	ERU-032

	El sistema permite al departamento de Tecnologías de la información respaldar la base de datos desde un medio físico o a través de la red	
EF-015	Plan de recuperación de los datos en case de desastre Personal especializada es el encargado de restablecer el software y los registros electrónicos	ERU-033
Configuración		Referencia de ERU
EF-016	Configuración vigencia de contraseña El sistema solicita cambio de contraseña después de un periodo de 90 días de que se registró. Para poder determinar el periodo de vigencia de contraseña siga la siguiente ruta: Seleccione el icono de “ingresar de Windows” > Panel de control > Herramientas administrativas > Política de seguridad local > Políticas de cuenta > política de contraseña > vigencia máxima de contraseña > 90 días > aceptar	ERU-029
EF-017	Configuración intentos fallidos El sistema bloquea al usuario después de ingresar con contraseña errónea 3 veces consecutivas Seleccione el icono de “ingresar de Windows” > Panel de control > Herramientas administrativas > Política de seguridad local > Políticas de cuenta > política de bloqueo de cuenta > intentos de bloqueo de cuenta > 3 intentos > aceptar	ERU-030
EF-018	Configuración inactividad del sistema El sistema se bloquea después de un tiempo de inactividad de 5 minutos Seleccione el icono de “ingresar de Windows” > Panel de control > Opciones de fuente > 5 minutos > aceptar	ERU-031
Auditoria de datos		Referencia de ERU
EF-019	Registro de auditoria de datos o “audit trail” Con cualquier perfil de usuario del software se puede visualizar la actividad realizada por los demás usuarios como: configuración de software, identificación, fecha y hora	ERU-034
EF-020	Exportación de la auditoria de datos Con cualquier perfil de usuario del software se puede exportar la información de la auditoria de datos en formato HTML, .txt	ERU-035
Alertas		Referencia de ERU
EF-021	Mensaje de alarma usuario y contraseña errónea El sistema operativo muestra un mensaje de alarma al ingresar con usuario y/o contraseña errónea	ERU-037
EF-022	Mensaje de alarma de parámetros fuera de rango El sistema muestra mensajes cuando se ingresan parámetros (voltaje, temperatura, presión, entre otros) fuera de rango en el método y condiciones iniciales	ERU-038
EF-023	Consulta del software 32 Karat® a travpes del PA 800 Plus® El software PA 800 Plus® permite consultar el funcionamiento del 32 Karat®	ERU-039
EF-024	Inicio de sesión en el software 32 Karat® Cualquier usuario ingresa al icono 32 Karat® presionando doble clic, visualizándose la página principal, posteriormente permite ingresar usuario y contraseña independientemente del perfil de usuario	ERU-040
EF-025	Cierre de sesión del software 32 Karat® Cualquier usuario puede cerrar sesión del software 32 Karat® independientemente del perfil de usuario	ERU-041

Otros		Referencia de ERU
EF-026	La temperatura del área se debe encontrar a 15°- 30 ° C	ERU-049
EF-027	La humedad del área requerida para el correcto funcionamiento del sistema computarizado debe estar ≤ 70% HR (Húmedad relativa)	ERU-050
EF-028	El sistema debe contar con un voltaje de entrada de 120 V ± 10%	ERU-051
EF-029	El sistema debe contar con una fuente de energía ininterrumpida UPS	ERU-052

7.8.2.3 Apoyo en liberación de materia prima y producto terminado

El objetivo de esta actividad es la descripción de técnicas analíticas para el análisis y aprobación de principios activos (API) de medicamentos biológicos y biotecnológicos a fabricar, así como el análisis y aprobación de los productos terminados (PT) antes de su comercialización. De acuerdo a la NOM-059-SSA1-2015 “Buenas prácticas de fabricación de medicamentos”, se establece que ningún medicamento puede venderse o suministrarse sin que previamente se haya certificado que cada lote fabricado se ha producido y controlado según los requisitos establecidos en la Autorización de Comercialización y cualquier otra regulación relativa a la producción, control y liberación de medicamentos.

Casi todos los productos biofarmacéuticos comercializados para uso humano o veterinario están basados en proteínas. En la actualidad, se han producido y aprobado más de 130 péptidos y proteínas como compuestos terapéuticos para el diagnóstico y / o tratamiento de diferentes tipos de enfermedades y este número está aumentando rápidamente. Con una industria en crecimiento tan fuerte, existe una demanda inevitable de técnicas analíticas avanzadas que podrían aplicarse como herramientas sensibles y confiables en el desarrollo y control de calidad de estos productos para garantizar su seguridad y eficiencia (Tamizi y Jouyban, 2015)

Actualmente la NOM-059-SSA1-2015 menciona que tanto las materias primas como los productos terminados deben contar con un certificado analítico de calidad, el cual es elaborado mediante el análisis de la muestra de acuerdo a la FEUM (Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos) vigente y sus suplementos, o de acuerdo a métodos analíticos validados. Dicho certificado avala que la materia prima o producto terminado cuenta con

las especificaciones establecidas (características de cada MP o PT) por la FEUM o certificado de proveedor.

Una actividad como analista de desarrollo analítico fue apoyar en la ejecución de algunos métodos analíticos para la liberación (al dictamen que indica la disposición del producto a partir de una revisión sistemática para asegurar la calidad desde todos los aspectos, particularmente los de las BPF o GMP) de lotes de materias primas y productos terminados de medicamentos biotecnológicos. Algunas de las técnicas ejecutadas son las siguientes:

- SDS-Page

La técnica de electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE “Polyacrylamide gel electrophoresis”) es una de las técnicas más importantes en el laboratorio de biología molecular y en la industria farmacéutica. El gel está formado por una red de acrilamida que entre mayor sea su concentración, más complicado será para la proteína moverse a través de él, por lo que la movilidad de la misma dependerá de su peso y carga. En esta técnica el gel se divide en dos, el gel concentrador y gel separador, el primero tienen el objetivo de concentrar a la proteína en una banda antes de ser separada por el segundo gel (Zilberstein et al., 2007; Sullivan y DiGrazia, 2012; Sörgel et al., 2015; Parr et al., 2016; Guzman, 2016 y Bibel, 2019), como se observa en la Figura 15. La proteína y las impurezas son identificadas como bandas en el gel de electroforesis, a través de un equipo llamado fotodocumentador (el cual proporciona una evaluación cualitativa) y/o densitómetro (el cual proporciona una evaluación cuantitativa) (Zilberstein et al., 2007; Sullivan y DiGrazia, 2012; Sörgel et al., 2015; Parr et al., 2016).

Una de las aplicaciones de esta técnica en la industria farmacéutica es que debido a su bajo costo, en el departamento de calidad y nuevos desarrollos, se utiliza para liberar materia prima y producto terminado para el aspecto de identidad y pureza (Sullivan y DiGrazia, 2012; Sörgel et al., 2015; Parr et al., 2016). Algunos de los medicamentos analizados en Landsteiner por el autor empleando esta técnica fueron una proteína recombinante y una proteína dimérica construida genéticamente de dos dominios diferentes.

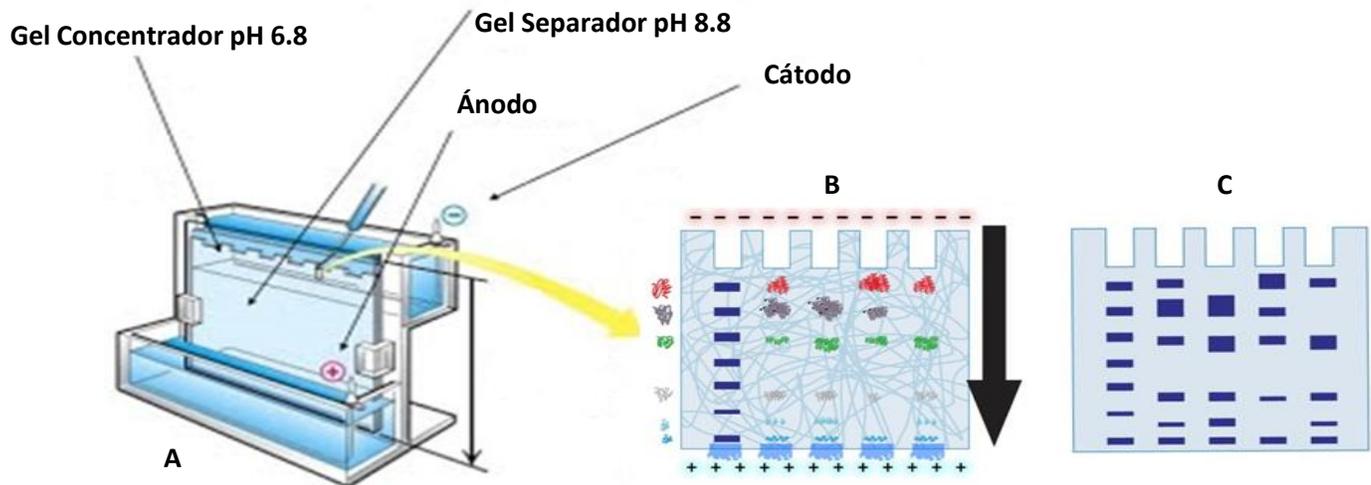


Figura 15. Esquema General de la electroforesis SDS-PAGE. A) División del gel separador y concentrador, y dirección de la electroforesis con la ubicación del ánodo y cátodo, B) separación de proteínas por peso en la matriz de gel, la flecha indica la dirección de la migración de mayor a menor tamaño y C) Gel teñidos con azul de comassie o nitrato de plata. Fuente: Extraído de Guzman, 2016 y Bibel, (2019).

Durante la estancia laboral en Landsteiner Scientific, se apoyó ejecutando la técnica SDS-PAGE para la prueba de ensayo de identidad en condiciones reductoras y no reductoras de la muestra de interés para el departamento de Biotecnología; esta es una de las pruebas usadas para liberar el producto terminado de dicha muestra. A continuación se describe la metodología de análisis de la prueba realizada, así como su resultado, en el cual se esperaba encontrar un peso molecular de entre 17.8 y 19 kDa, en comparación con el estándar de referencia, rango reportado de la muestra interés.

Materiales y Método:

- Preparación de la muestra interés y su estándar de referencia

Se prepararon ocho diluciones de la muestra interés. Las primeras cuatro diluciones seriadas se prepararon ocupando como diluyente solución amortiguadora para muestras no reductoras, partiendo de una concentración de 300 µg/mL, para obtener las siguientes concentraciones 100 µg/mL, 50 µg/mL, 10 µg/mL y 2 µg/mL. Posteriormente, se prepararon las otras cuatro diluciones seriadas ocupando como diluyente solución amortiguadora para

muestras reductoras partiendo de una concentración de 300 µg/mL, para obtener las concentraciones de 100 µg/mL, 50 µg/mL, 10 µg/mL y 2 µg/mL. Mientras que el estándar de referencia de la muestra interés se diluyó con solución amortiguadora para muestras reductoras y no reductoras hasta obtener una concentración de 100 µg/mL.

- Tinción con plata

De acuerdo a la especificación técnica interna de la empresa, se ocupó un gel SDS-PAGE del 12% (gel separador) y del 5% (gel concentrador), posteriormente se colocaron 10 µL del marcador de peso molecular en el primer carril del gel, se dejó un carril vacío, se agregaron 20 µL de la preparación de referencia en el carril 3, carril vacío y finalmente se adicionaron 20 µL de cada dilución de la muestra en el carril 5,6,7 y 8 sin dejar un espacio vacío entre ellos.

Se corrieron los geles a 30 mA durante 30 minutos, posteriormente se incrementó a 50 mA hasta que el gel alcanzara una distancia de 1 cm del borde. Una vez terminada la corrida, se mantuvieron en solución de fijación durante 1 h con agitación lenta. Se lavaron tres veces en solución de lavado (5 minutos, 10 minutos y 15 minutos). Ulteriormente se enjuagaron rápidamente con solución de tiosulfato y seguidamente se realizaron tres lavados con agua purificada. Se dejaron incubar durante 20 minutos en la solución de nitrato de plata, finalizado el tiempo de incubación, se enjuagaron 3 veces con agua purificada y se revelaron con solución de revelado, hasta visualizar las bandas. Una vez reveladas las bandas, los geles se colocaron 5 minutos en solución de fijación y lavaron con solución de lavado. Finalmente se colocaron los geles en solución de conservación. Para su procesamiento se ocupó un fotodocumentador Chemidoc MP[®] marca Bio-Rad.

Resultado. La muestra cumple con la especificación interna de la empresa ya que tiene un peso molecular relativo de 18.2 kDa en comparación con el estándar de referencia en condiciones no reductoras y reductoras, como se observa en la Figura 16 y 17.

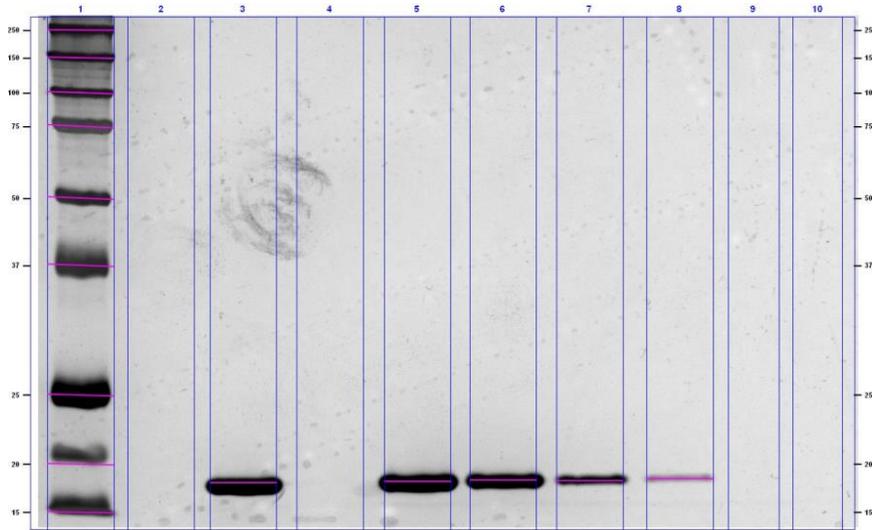


Figura 16. Electroforesis SDS-PAGE en condiciones no reductoras para la prueba de IDENTIDAD de la muestra interés. Carril 1) marcador de peso molecular (de 15 a 250 kDa), 3) estándar de referencia de la muestra interés (entre 18.6 kDa) carriles 5 (Muestra 1), 6 (Muestra 2), 7 (Muestra 3) y 8 (Muestra 4). La muestra interés tiene un peso molecular relativo entre 18.2 kDa en comparación con el estándar de referencia.

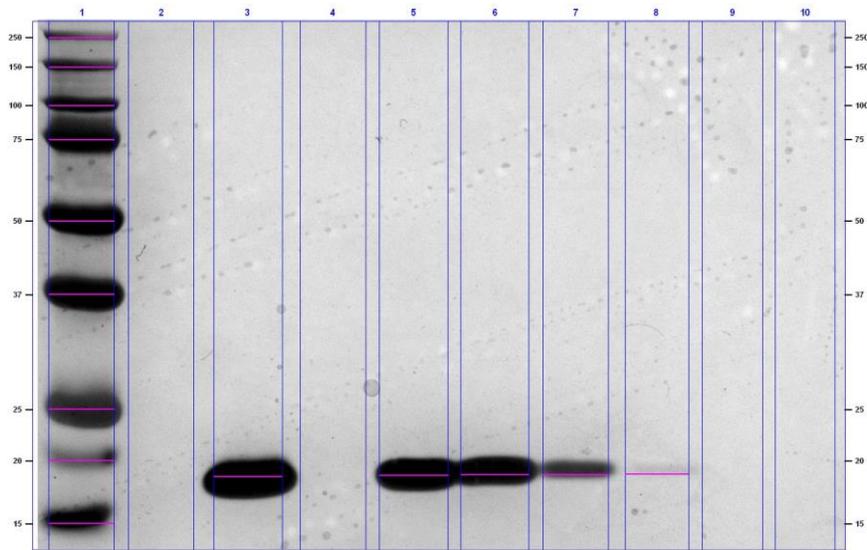


Figura 17. Electroforesis SDS-PAGE condiciones reductoras para la prueba de IDENTIDAD de la muestra interés. Carril 1 el marcador de peso molecular (de 15 a 250 kDa), en el carril 3 el estándar de referencia de la muestra interés (entre 18.6 kDa) y finalmente en los carriles 5 (Muestra 1), 6 (Muestra 2), 7 (Muestra 3) y 8 (Muestra 4) la muestra interés tiene un peso molecular relativo entre 18.2 kDa en comparación con el estándar de referencia.

- Western Blot

Western blot, Western Blotting, Inmuno Blot, inmunotransferencia o electrotransferencia, es una técnica analítica empleada en biología molecular y en la industria farmacéutica habitualmente para identificar cualitativamente una proteína específica de una muestra biológica compleja, y proporcionar información sobre su peso molecular, a través de la separación de proteínas mediante la electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE) basada en tamaño; su posterior transferencia e inmovilización a un soporte de membrana y finalmente su detección selectiva mediante un sistema indicador mediado por anticuerpos (Walker, 2002; Le Vacon, 2005; Yang y Mahmood, 2012; Hnasko y Hnasko, 2015; Kurien y Scofield, 2015; Ni et al., 2017) como se puede observar en la Figura 18.

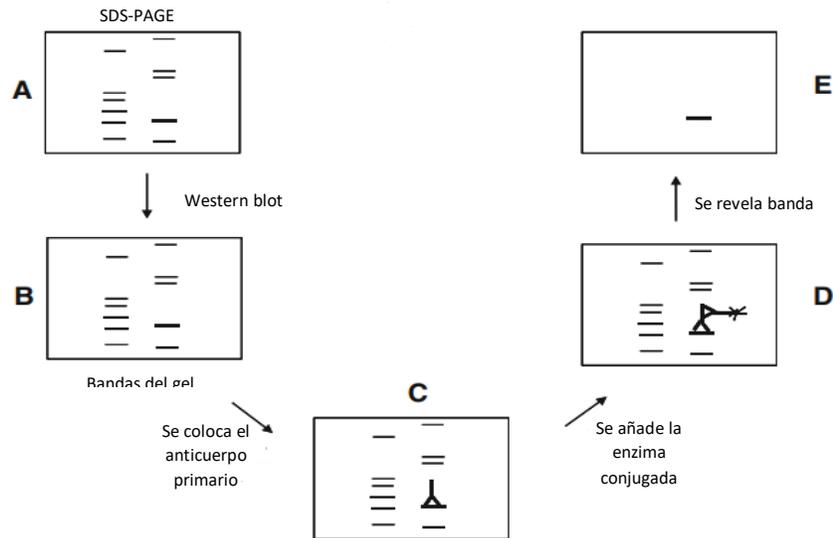


Figura 188. Representación gráfica del Western Blot y proceso de detección. A) Gel SDS-PAGE sin marcar antes del Western Blot (las bandas mostradas son hipotéticas). B) Réplica exacta del gel SDS-PAGE después de transferir las bandas a la membrana. C) Anticuerpo primario unido a la banda específica de la proteína. D) Anticuerpo secundario conjugado a una enzima (fosfatasa alcalina o la peroxidasa de rabano) la cual se une al anticuerpo primario. E) Banda específica revelada. Fuente: Extraído de Kurien y Scofield, (2015)

Una de las aplicaciones más importante en la industria farmacéutica de esta técnica, es que es usada como prueba de identificación para la liberación de materia prima y producto terminado, de productos biotecnológicos como proteínas de fusión doble.

Durante la estancia laboral en Landsteiner Scientific, se apoyó ejecutando la técnica Western Blotting para una muestra interés en el departamento de Biotecnología. La cual es una de las pruebas (aparencia o aspecto de la solución, cantidad de llenado, materiales extraños visibles, pH, osmolalidad, entre otras) para liberar la estabilidad a largo plazo (condiciones de refrigeración 2 a 8 ° C) del producto terminado de dicha muestra. A continuación se describe la metodología de análisis de la prueba, así como su resultado, en el cual se esperaba encontrar que una reacción positiva en la muestra interés con el anticuerpo específico, observándose en la membrana un banda principal, tanto en la muestra interés como en el estándar, las cuales deben presentar una intensidad y posición similares.

Materiales y Método:

- Preparación de la muestra interés y su estándar de referencia

Se preparó una dilución de la muestra interés partiendo de una concentración de 1 mg/mL, posteriormente se mezclaron 50 μ L (1 μ g/ μ L) de la muestra previamente preparada con 50 μ L de la solución concentrada del buffer de carga, para tener así una concentración de 0.5 mg/mL (0.5 μ g/ μ L). Por otro lado, el estándar de referencia se diluyó con agua purificada a una concentración 1 mg/mL., para después tomar 50 μ L (1 μ g/ μ L) del estándar diluido y mezclarlo con 50 μ L de la solución concentrada del buffer de carga, de manera que fuera posible tener una concentración de 0.5 mg/mL (0.5 μ g/ μ L). Posteriormente, se colocó la muestra interés y el estándar de referencia de la muestra interés en un baño seco durante 5 minutos a 100°C y se centrifugaron a 10 000 rpm durante 1 minuto.

- Metodología

De acuerdo a la especificación técnica interna de la empresa, se ocupó gel de poliacrilamida del 8% (gel separador) y del 5% (gel concentrador). Posteriormente, se colocaron 10 μ L del

marcador de peso molecular en el primer carril, se dejó un carril vacío, se agregaron 10 µL estándar de referencia en el carril 3, carril vacío y finalmente se colocaron 10 µL de muestra (carril 5, 7 y 9). Se corrieron los geles durante 15 min a 100 Volts para concentrar las muestras, mientras que la segunda corrida para la separación de las mismas fue de 45 min a 150 Volts, o hasta que la muestra alcanzara una distancia de 1 cm del borde inferior. Una vez transcurrido el tiempo de corrida, los geles se colocaron en el casete de transferencia, en el siguiente orden: membrana PVDF hidratada con buffer de transferencia, gel de acrilamida previamente corrido, papel filtro hidratado con buffer de transferencia y tapa del casete.

Más adelante, se empezó la corrida de transferencia a 0.4 A durante 1 hora. Terminada la transferencia se inició el proceso de inmunointeracción colocando la membrana en la solución de bloqueo durante toda la noche, en refrigeración. Al siguiente día, se diluyó el anticuerpo específico/HRP (peroxidasa de rábano picante) en PBS pH 7.2, dejando incubar la membrana durante 2 horas. Después se lavó la membrana 3 veces por 5 minutos utilizando solución de lavado. Una vez lavadas para desarrollar color, se adicionó 1 mL de TMB (Tetrametilbenzidina). Por último, ya que las bandas se visualizaban perfectamente, se paró a reacción inmediatamente con agua purificada. Para su procesamiento se ocupó un fotodocumentador Chemidoc MP[®] marca Bio-Rad.

Resultado. La muestra cumple con la especificación interna de la empresa, ya que presenta una reacción positiva con el anticuerpo específico, observándose en la membrana una banda principal tanto en la muestra como en el estándar, las cuales presentan una intensidad y posición similares, como se observa en la Figura 19.

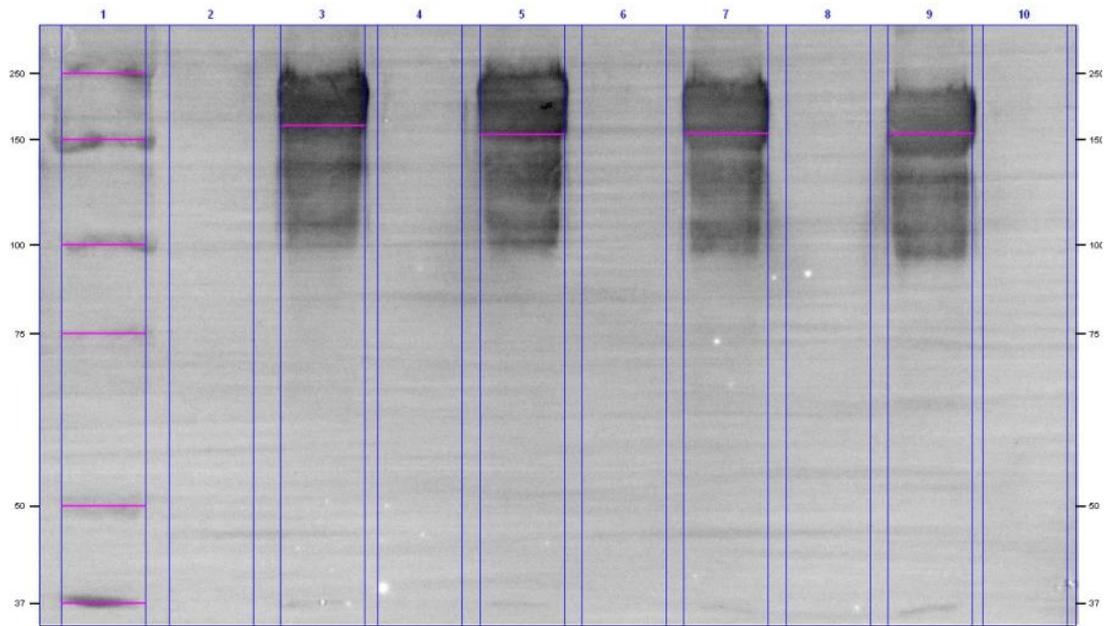


Figura 19. Western Blot de la muestra interés. Carril 1) marcador de peso molecular (de 37 a 250 kDa), carril 3 el estándar de referencia de la muestra interés (entre 179 kDa) y finalmente en el carril 5, 7 y 9 la muestra interés (entre 181 kDa), la cual presenta una reacción positiva con el anticuerpo específico, observándose en la membrana un banda principal tanto en la muestra como en el estándar, las cuales deben presentar una intensidad y posición similar.

- BCA

En biotecnología y en muchas otras áreas científicas, una medición precisa de la concentración de proteínas es de gran relevancia. Especialmente en el campo de la producción recombinante de biofármacos y otros compuestos de alto valor agregado, ya que la concentración de proteína total sirve como una variable clave para el desarrollo de procesos y para propósitos de control de calidad en la industria farmacéutica (determinación de la concentración de proteína total en la materia prima o producto terminado de medicamentos biocomparables (Reichelt et al., 2016).

El ensayo BCA (Smith et al., 1985) es un método colorimétrico que mide la formación de Cu^+ a partir de Cu^{2+} en condiciones alcalinas usando ácido bicinconónico (BCA), como se observa en la Figura 20 (PB-L Productos Bio-Lógicos), estimando la concentración de una proteína (Walker, 2002; Olson, 2016; Reichelt et al., 2016). La producción de Cu^+ de este ensayo está en función de la concentración de la proteína y el tiempo de

incubación, dando como resultado el desarrollo de un color púrpura intenso con un máximo de absorbancia a 562 nm, por lo que la absorbancia de este complejo se usa para cuantificar la concentración de una proteína usando la ley de Beer, aunque también se puede determinar espectrofotométricamente el contenido de proteína de muestras desconocidas por comparación con una curva estándar de una proteína conocida (Walker, 2002; Weiser et al., 2012; Olson, 2016; Reichelt et al., 2016).

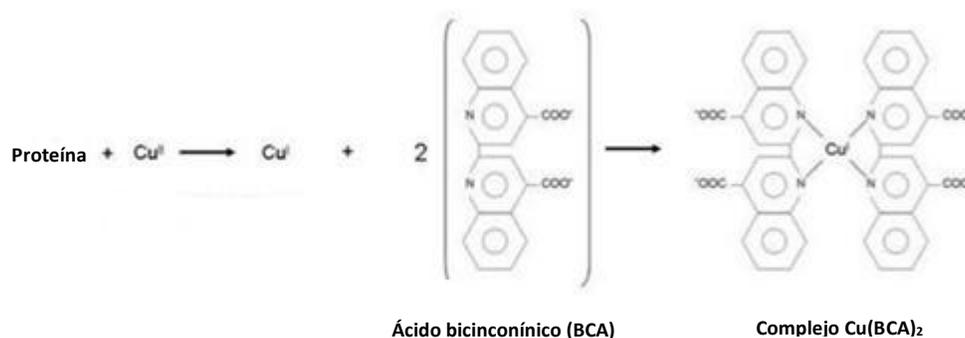


Figura 20. Representación gráfica de la reacción de proteína + BCA. Fuente: Extraído de PB-L Productos Bio-Lógicos (2020).

Durante la estancia laboral, se apoyó ejecutando la técnica de contenido de proteína por BCA para una muestra interés. Esta es una de las pruebas (aparencia o aspecto de la solución, cantidad de llenado, materiales extraños visibles, pH, osmolidad, entre otras) para liberar la estabilidad a largo plazo (condiciones de refrigeración 2 a 8 ° C) del producto terminado de dicha muestra. A continuación, se describe la metodología de análisis de la prueba así como su resultado, en el cual se esperaba encontrar una concentración de 50 mg/ ml \pm 0.5 mg/ml en la muestra interés.

Materiales y Método:

- Preparación de la muestra interés y su estándar de referencia

Se preparó una dilución de 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$, por duplicado. Partiendo de una concentración de 50 mg/mL, tomando 10 μL de esta muestra y mezclando con 990 μL de agua (0.5 mg/mL).

Por otro lado, para el estándar de referencia de la muestra interés, se realizó una curva estándar de trabajo de albúmina sérica bovina de cinco diluciones 1 000 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, 750 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, 500 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, 250 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ y 125 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$.

- Detección por BCA

De acuerdo a la especificación técnica interna de la empresa, se colocó por duplicado 25 μL de cada uno de los puntos de la curva estándar y del blanco (agua purificada), mientras que, de la muestra, se agregaron 25 μL por cuadruplicado. Lo anterior adicionó en una placa de 96 pozos. Posteriormente, se agregaron 200 μL del reactivo de ensayo de proteína BCA (reactivo A y B a una proporción 50:1, marca Thermo Scientific, número catálogo 1859078) a todos los pozos que contenían la curva estándar, blanco y muestra. Se agitó durante 30 segundos y se dejó incubar por 30 minutos a 37°C. Finalizado el tiempo de incubación, se leyó la placa a una absorbancia de 562 nm en un lector de microplacas marca BMG Labtech, modelo Clariostar. Con el software de dicho lector de microplacas se graficó la curva estándar, realizando una regresión lineal con el promedio de las absorbancias de la curva estándar, ver Figura 21.

Resultado. La muestra cumple con la especificación interna de la empresa, ya que el promedio de la absorbancia de los cuatro puntos de la muestra presenta una concentración de 49.956 mg/ml, valor que se encuentra del rango permitido para la muestra interés, ver Figura 22.

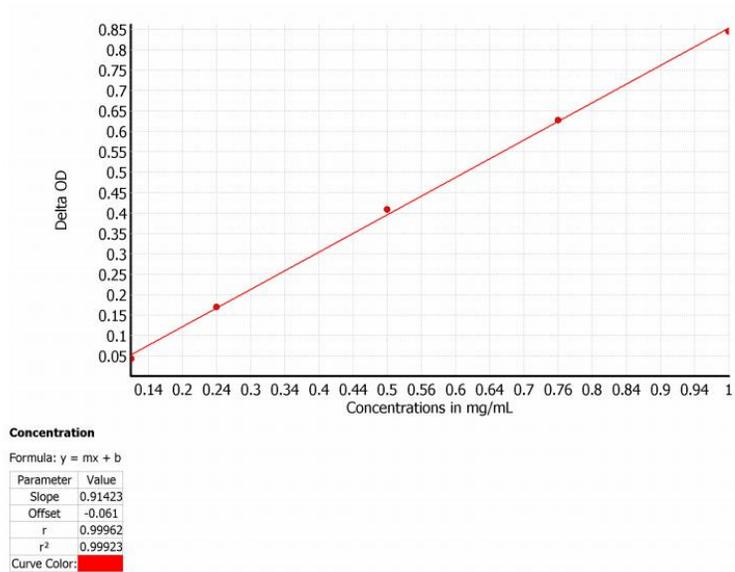


Figura 21. Curva estándar de albumina a 5 concentraciones 1 000, 750, 500, 250 y 125 µg/ml. La curva es lineal en un rango amplio y se ajusta a la ecuación $y = 0.91423x - 0.061$ y tiene un valor de R2 de 0.99923. Los datos utilizados para generar la figura se muestran en la Figura 23.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A)											
	0.85	0.642	0.412	0.172	0.044	-0.072					
	0.997 mg/mL	0.769 mg/mL	0.518 mg/mL	0.255 mg/mL	0.116 mg/mL	-0.011 mg/mL					
	0.992 mg/mL	0.753 mg/mL	0.514 mg/mL	0.253 mg/mL	0.114 mg/mL	-0.010 mg/mL					
	0.84	0.612	0.404	0.167	0.041	-0.07					
	0.986 mg/mL	0.737 mg/mL	0.509 mg/mL	0.250 mg/mL	0.112 mg/mL	-0.010 mg/mL					
	0.992 mg/mL	0.753 mg/mL	0.514 mg/mL	0.253 mg/mL	0.114 mg/mL	-0.010 mg/mL					
B)											
				0.402	0.393	0.388	0.399				
				50.639 mg/mL	49.699 mg/mL	49.141 mg/mL	50.344 mg/mL				
				49.956 mg/mL	49.956 mg/mL	49.956 mg/mL	49.956 mg/mL				

Figura 22. Lecturas de la curva estándar y muestra interés en el lector de microplacas por el método de BCA. Curva estándar por duplicado así como el promedio de ambas mediciones B) muestra por cuadruplicado y el promedio de las 4 mediciones.

- Electroforesis capilar “CE” (Isoelectroenfoco Capilar, CIEF)

El mecanismo de separación en la EC es el mismo de la electroforesis convencional: las especies cargadas disueltas o suspendidas en una solución amortiguadora presentan una diferente velocidad de migración bajo la influencia de un campo eléctrico. Los cationes migran hacia el cátodo (electrodo de carga negativa) mientras que los aniones migran hacia el ánodo (electrodo de carga positiva) y las especies neutras no migran por sí solas (Doroteo, 2012; FEUM, 2018), como se observa en la Figura 23. Las propiedades del disolvente tales como la fuerza iónica, pH y la constante dieléctrica, también son importantes porque influyen sobre la carga efectiva del analito y, en el caso de moléculas grandes, sobre su forma y tamaño hidrodinámico (FEUM, 2018). El campo eléctrico es una simple función de la aplicación del voltaje y la longitud del capilar (voltios/cm). La movilidad electroforética (velocidad a la que migra) depende en general del tamaño y carga de la especie iónica, naturaleza y concentración del analito (Castagnino, 2000; Osatinsky, 2007; Doroteo, 2012; FEUM, 2018).

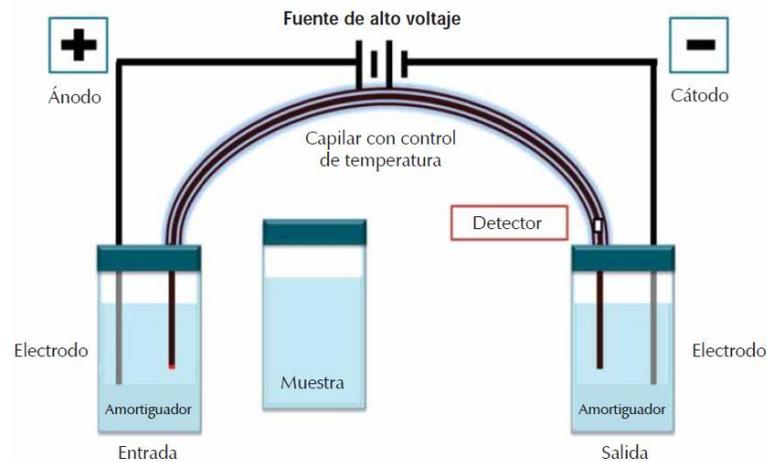


Figura 23. Esquema de los elementos del sistema de EC. Fuente: Extraído de Doroteo, (2012).

Debido al alcance del presente escrito, se describirá el enfoque isoelectroenfoco capilar (CIEF). Dicho enfoque tiene sus bases en el enfoque isoelectroenfoco (IEF), la cual es una

técnica de alta resolución para la separación de mezclas de proteínas complejas. (Rodríguez et al., 1997; Hunt et al., 1998; Kilár, 2003; Mack et al., 2009; Suba et al., 2015; FEUM, 2018; Kahle y Wätzig, 2018). Se utiliza básicamente para la separación de proteínas. Los analitos se separan debido a las diferencias que tienen en cuanto a sus puntos isoeléctricos relativos. La separación se logra creando un gradiente de pH dentro del capilar, donde el pH ácido se ubica en el ánodo y el alcalino en el cátodo, como se observa en la Figura 24 (Fundamentos de electroforesis capilar y aplicaciones, 2017). El gradiente de pH se establece aplicando voltaje a un capilar lleno con una mezcla de sustancias anfotéricas (ácidos poliaminocarboxílicos) que poseen diferentes valores de punto isoeléctrico (Rodríguez et al., 1997; Hunt et al., 1998; Kilár, 2003; Mack et al., 2009; Suba et al., 2015; FEUM, 2018; Kahle y Wätzig, 2018).

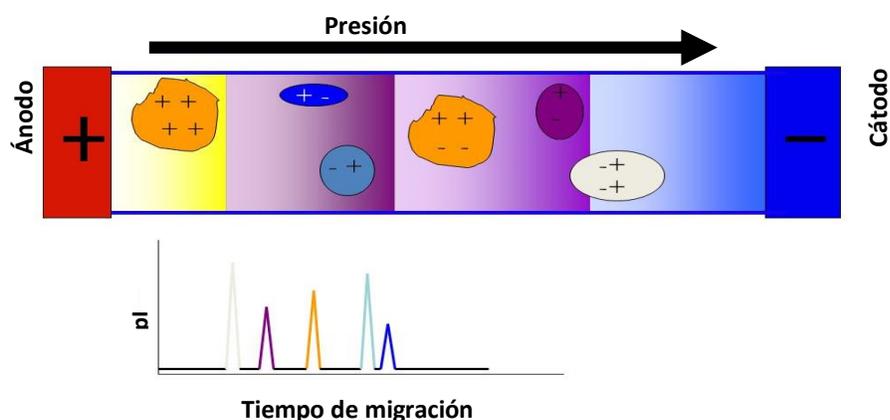


Figura 24. Representación gráfica de los analitos en la metodología CIEF. A) La imagen representa el flujo de los analitos en el capilar dependiendo de su masa/carga. B) Gráfica del tiempo de migración Vs. pI de los analitos. Fuente: Extraído de Fundamentos de electroforesis capilar y aplicaciones, (2017). Fuente: Extraído de Fundamentos de electroforesis capilar y aplicaciones, (2017).

Durante la estancia laboral en Landsteiner Scientific, se apoyó ejecutando la técnica de Isoeléctro-enfoque capilar (CIEF) para la prueba de ensayo de identidad de una muestra interés. La cual es utilizada (descripción, ensayo de identidad, esterilidad, inocuidad, proteínas relacionadas, entre otras) para liberar el producto terminado de dicha muestra. A continuación, se describe la metodología de análisis de la prueba, así como su resultado,

en el cual se esperaba encontrar un pI de 6.2 ± 0.2 unidades de pH (pI reportado para la muestra interés).

Materiales y Método:

- Preparación del capilar

Se instaló un cartucho capilar neutro de 50 μm , con una longitud de 30 cm en el equipo de electroforesis capilar marca Beckman Coulter modelo PA800 Plus.

- Preparación de la muestra interés y master mix

Se preparó la muestra interés partiendo de una concentración inicial de 0.3 mg/mL a una concentración final de 1.2 mg/mL. Por otro lado, se colocaron en el master mix las siguientes soluciones en un tubo de polipropileno: Urea-Gel CIEF (200 μl), Anfolitos de 3-10 (12 μl), estabilizador catódico (20 μl), estabilizador anódico (2 μl), marcador de pI 4.1 (2 μl), marcador de pI 7.0 (2 μl), marcador de pI de 9.5 (2 μl), marcador de pI de 10.0 (2 μl) y muestra (41.7 μl). Finalmente, se mezclaron en un vortex durante 15 segundos.

Posteriormente, en la bandeja de entrada del equipo, se situaron tubos para electroforesis capilar con los siguientes reactivos: agua grado HPLC, anólito (ácido fosfórico 200 mM), solución urea, gel CIEF, química movilizadora (ácido acético 350 mM), mientras que en la bandeja de salida se distribuyeron tubos con agua grado HPLC, residuos, católito (hidróxido de sodio 300 mM) y química movilizadora (ácido acético 350 mM). Ambas bandejas fueron introducidas en el equipo Beckman Coulter modelo PA800 Plus. En la bandeja de muestras se colocó un tubo con el master mix previamente preparado. Se corrieron las muestras en el equipo con un voltaje de 20 Kv, una corriente de 20 μA , la temperatura del cartucho a 15°C y de la muestra a 10°C, programando una longitud de onda a 280 nm. Para el procesamiento de la muestra se ocupó un equipo y software de electroforesis capilar marca Beckman Coulter modelo PA800 Plus.

Resultado. La muestra cumple con la especificación interna de la empresa, ya que el pI se encontró a 6.19 unidades de pH, valor que se encuentra dentro del rango permitido para la muestra interés, ver Figura 25.

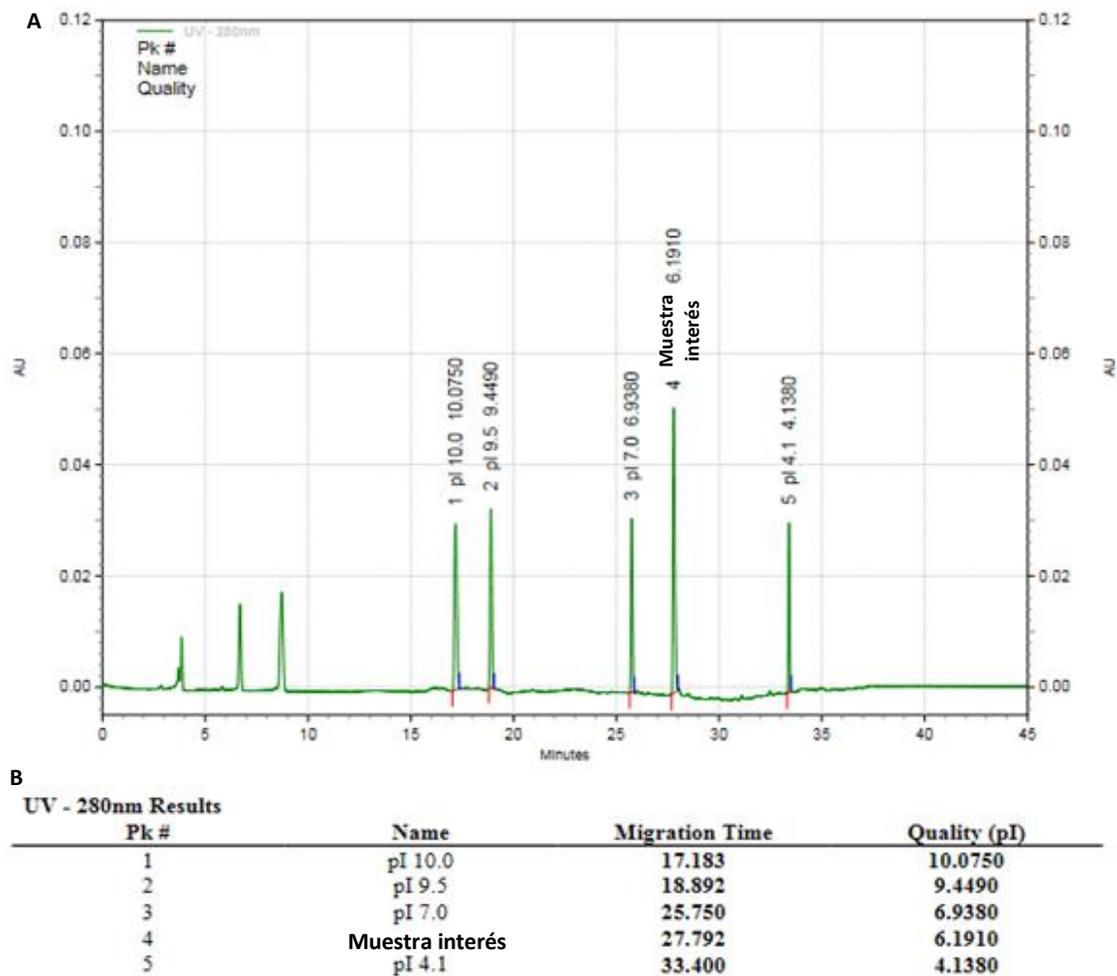


Figura 25. Electroferograma y tabla de resultados de la prueba CIEF de la muestra interés para la prueba de IDENTIDAD. A) En el electroferograma de la prueba CIEF se pueden observar los marcadores de punto isoeléctrico (pico 1 pI 10.0, pico 2 pI 10.0, pico 3 pI 10.0, pico 5 pI 10.0), la muestra de interés (pico 5) y los tiempos de migración de cada marcador y muestra, mientras que B) resultados, en la primer columna de izquierda a derecha, se enumeran los picos detectados durante la corrida, en la segunda columna se observan los nombres de los picos, en la tercer columna se visualizan los tiempos de migración en el capilar de cada pico y finalmente en la última columna se muestra el pI de cada de cada uno, mostrando una calidad buena ya que están cerca de sus valores reales, en el cual la muestra interés tiene un pI de 6.19, encontrándose dentro del rango permitido.

8. Solución Desarrollada y sus alcances

Tomando en cuenta los temas abordados en el presente escrito, a continuación se presentan la solución propuesta a cada uno:

1. Apoyo en la elaboración y verificación de protocolos de biocomparabilidad para productos de línea (con registro obtenido) o nuevos desarrollos (registro por obtener): Se apoyó en la elaboración del protocolo de biocomparabilidad de insulina, el cual se anexó a la evidencia para el sometimiento del registro ante COFEPRIS. Cabe resaltar que el alcance de este rubro únicamente se enfocó al protocolo de biocomparabilidad, ya que se requieren muchas más evidencias y documentación para someter un registro ante COFEPRIS. En este aspecto se contribuyó a proponer las posibles pruebas de biocomparabilidad.
2. Apoyo en la calificación de equipos, validación de sistemas computarizados: Fue posible recopilar la información de los equipos y sistemas computarizados del departamento de Biotecnología, así como la elaboración de los Requerimientos de Usuario y Especificaciones funcionales, ambos piezas fundamentales para la calificación y validación de equipos y sistemas computarizados del área de Biotecnología. La elaboración de protocolos de diseño, instalación, operación y desempeño, así como su ejecución, están a cargo del departamento de Validación. Sin embargo, eso no eximió al autor de conocer el proceso y revisión de lo evaluado, ya que, como usuario final, es importante conocer el proceso. Adicionalmente, se contribuyó a que la mayoría de los equipos y sistemas computarizados del área de biotecnología estén calificados y validados respectivamente.
3. Apoyo en liberación de materia prima y producto terminado: El alcance de este rubro está centrado principalmente en excipientes y producto terminado de productos de línea de Landsteiner, contribuyendo a la liberación de medicamentos que salen a la venta, disminuyendo su tiempo de liberación.

9. Impacto de experiencia Laboral: Discusión y conclusión

Meyer y Schwager (2007) definen la experiencia laboral o también llamada profesional, como un criterio de selección que refiere a los conocimientos que una persona adquiere a lo largo del tiempo. Se vincula estrechamente con la cantidad de años de ejercicio laboral de una persona y se asume que cuantos más años de trabajo posee, mayor será la experiencia en dicho cargo. A su vez, Alba (1996) menciona que “La experiencia laboral permite al individuo formarse en el mundo del trabajo en un sentido amplio, adquiriendo destrezas en las tareas de la producción, disciplina en el cumplimiento de las obligaciones laborales, espíritu de cooperación para el trabajo en equipo, etc.”.

Actualmente, la experiencia laboral tiene un gran impacto e importancia para cualquier empleador (privado o público), ya que tiene un gran reconocimiento en la productividad y en los resultados de la compañía. De acuerdo a Tokman (2003), en relación a la educación y desempleo de los jóvenes, “Cuanto más jóvenes y menos educados, mayores son las tasas de desempleo, porque su capital humano acumulado (educación y experiencia laboral) es menor”. Por lo que se podría inferir que la educación y la formación favorecen la ocupación de los jóvenes, mientras que la falta de experiencia laboral y los largos lapsos de tiempo sin trabajar (con aumento de sus edades) la obstruyen.

Alba (1996), por su parte, también afirma que la inexperiencia laboral es un obstáculo para aquellos que ingresan por primera vez al mercado laboral, ya que deben competir con quienes sí la tienen y ya conocen el mercado laboral, siendo los últimos los preferidos por los empleadores, quienes consideran la experiencia laboral como garantía de los conocimientos ya adquiridos por el trabajador. Martí, (2003) considera que la experiencia profesional es “el requisito de acceso al empleo nombrado con más frecuencia (74%) por los estudiantes universitarios” lo mismo sostiene Riquelme (1991) en un 50%. Si bien al momento de la contratación pueden considerarse otras competencias y cualidades, tales como pro-actividad, motivación, responsabilidad, buena presencia, creatividad, adaptabilidad, entre otras (Valero, 2012), la experiencia laboral es la más valorada.

Sin embargo, cabe aclarar que existen carreras universitarias que brindan mayores posibilidades de acceso al mercado laboral que otras, incluyendo en sus planes de estudios a las prácticas profesionales como materia obligatoria. De acuerdo a Martín (2003), las prácticas o pasantías profesionales en empresas se vuelven en la mayoría de los casos la salvación de los universitarios sin experiencia laboral previa, ya que contribuyen a disminuir las brechas existentes entre la universidad y las empresas. Afirmando que los universitarios que realizan prácticas profesionales están en ventaja frente a otros candidatos al momento de conseguir un primer empleo en su área de estudio, y constituyen además un referente importante en los curriculums de los recién titulados.

De acuerdo a lo expuesto anteriormente, el autor decidió realizar prácticas profesionales en la industria farmacéutica privada, debido a su impacto favorable en la solicitud de trabajo, así como la necesidad de iniciar una trayectoria profesional a temprana edad. Un factor determinante que ayudó al autor para ser seleccionado en Landsteiner Scientific como practicante, posteriormente como Auxiliar de Biotecnología y finalmente como Analista de Desarrollo Analítico en dicha empresa, fue el conocimiento teórico-práctico adquirido en la Licenciatura en Biotecnología de la Universidad Autónoma del Estado de México (UAEMéx). En especial, gracias a las bases sólidas y multidisciplinarias propias de la profesión, tales como: microbiología, fisicoquímica, bioquímica, matemáticas, farmacología, bioprocesos, enzimología, biología celular, biología molecular, cultivo celular, fundamentos de química, biofísica, termodinámica biológica, computación básica, química inorgánica, química orgánica, biotecnología farmacéutica, legislación y control de calidad, entre otras.

Otro aspecto importante adquirido en la Licenciatura, fue la posibilidad de desarrollar una visión humanista, para detectar problemas álgidos en Landsteiner, contribuyendo a la solución de los mismos, pero de manera completamente responsable y respetuosa. Dicho de otra manera, la UAEM formó a un profesionista con un gran sentido ético-humanístico capaz de cuestionarse sobre su actividad, los resultados de su trabajo y su inherente impacto en el análisis de medicamentos y actividades realizadas.

Además, dicha institución fue responsable de fomentar la participación en grupos de trabajo multidisciplinarios, ya que al estar laborando en Landsteiner, se trabajó con diferentes áreas/departamentos para poder ejecutar diversas actividades, por ejemplo: durante la realización del protocolo de biocomparabilidad, se estuvo en contacto con asuntos regulatorios, soporte documental, analítico y terceros autorizados para realizar dichos estudios, así como con el área de compras.

Por otro lado, con tal de realizar una correcta calificación y validación de equipos y sistemas computarizados, se estuvo en contacto con validación, metrología, tecnologías de la información y proveedores de equipos o software. Finalmente, para el análisis de materia prima, producto terminado o estabilidades, se estuvo en contacto con microbiología, almacén, terceros autorizados, soporte documental, entre otros.

Adicionalmente, durante los 3 años 2 meses (6 meses de prácticas profesionales y 32 meses como colaborador) de estancia en Landsteiner Scientific, se detectaron áreas de oportunidad en el plan de estudios de la Licenciatura en Biotecnología de la UAEM, en particular desde la perspectiva y experiencia vivida por el autor en su vida laboral. Dichas áreas de oportunidad podrían fortalecerse y contribuir a una mejor formación de un profesional para enfrentarse a la vida laboral como Licenciado en Biotecnología de la UAEM. Las áreas de oportunidad se discuten a continuación:

- Incluir en las unidades de aprendizaje obligatorias la instrumentación, ya que es fundamental al momento de trabajar en cualquier laboratorio, ya sea de microbiología, control fisicoquímico o nuevos desarrollos. Conocer el fundamento y funcionamiento de los diferentes equipos (cromatógrafos de alta y ultra resolución, gabinetes de bioseguridad, micropipetas, equipos de EC, fotodocumentadores, disolutores, espectrofotómetros, balanzas analíticas, potenciómetros, conductímetros, viscosímetros, fucímetros, cámaras de estabilidades, entre otros) ocupados en cualquier industria, es de gran ventaja para el egresado, ya que de esta manera el empleador invertirá menos tiempo y dinero en la capacitación del personal.

- Incluir en las unidades de aprendizaje obligatorias la química analítica, ya que ayuda a comprender mejor en qué consiste la validación de un método analítico en cualquier industria, en especial debido a que aborda conceptos como: exactitud, precisión, sensibilidad, límite de detección, límite de cuantificación y límite de linealidad, los cuales son esenciales en la validación. Otra aportación de la materia en la industria es aplicar los métodos de análisis para resolver problemas relacionados a composición y naturaleza química del analito, así como su aplicación en áreas de control de calidad de materias primas, productos terminados, asegurando que el producto cumple con las especificaciones de calidad establecidas por las entidades regulatorias aplicables.
- Fortalecer la unidad de aprendizaje de legislación en las diferentes ramas de la biotecnología, ya que conocer las entidades regulatorias, normas, guías, y leyes, en la industria farmacéutica, de alimentos o ambiental, es un pilar para saber qué es lo que se puede hacer, qué es lo que no se debe hacer, cómo se puede hacer, qué es lo que se debe tomar en cuenta, las especificaciones y recomendaciones, así como los permisos necesarios para trabajar en el campo deseado y a qué es lo que se enfrenta el egresado.
- Incluir optativas que desarrollen y fomenten la Inteligencia emocional, ya que no únicamente es importante contar con las bases teóricas de lo que uno estudia, puesto que actualmente se trabaja con grupos multidisciplinarios, los cuales tienen diferente formación y perfiles diferentes al egresado de la licenciatura en Biotecnología. Por lo tanto, es recomendable enfatizar la diferencia entre comportarse de una manera socialmente aceptable y estar fuera de lugar en una situación social determinada.
- Incluir unidades de aprendizaje que desarrollen y fomenten el liderazgo, ya que promover un conjunto de habilidades gerenciales o directivas contribuyen a que el egresado influya en la forma de actuar o ser de las personas con las que trabaja, logrando y contagiando a sus compañeros a trabajar con entusiasmo para lograr objetivos en común.

En conclusión, el plan de estudios de la Licenciatura en Biotecnología, ofertado por la Universidad Autónoma del Estado de México, contribuyó al buen desempeño del autor en la industria farmacéutica. Debido al enfoque multidisciplinario impartido en la UAMÉX en materias como: microbiología, fisicoquímica, bioquímica, matemáticas, farmacología, bioprocesos, enzimología, biología celular, biología molecular, cultivo celular, fundamentos de química, biofísica, termodinámica biológica, computación básica, química inorgánica, química orgánica, biotecnología farmacéutica, legislación y control de calidad, entre otras. Dotando al egresado de herramientas funcionales y competitivas en el campo laboral coadyuvando a la inserción del autor en una industria farmacéutica de importancia nacional.

10. Referencias bibliográficas

Abdih, Y. (2011). Cubrir el déficit de empleo: el alto desempleo juvenil contribuye al malestar generalizado en Oriente Medio. *Finanzas y desarrollo: publicación trimestral del Fondo Monetario Internacional y del Banco Mundial*, 48(2), 36-39.

Adams, G. G., Meal, A., Morgan, P. S., Alzahrani, Q. E., Zobel, H., Lithgo, R., Kok, M. S., Besong, D. T. M., Jiwani, S. I., Ballance, S., Harding, S. E., Chayen, N., y Gillis, R. B. (2018). Characterisation of insulin analogues therapeutically available to patients. *PLOS ONE*, 13(3).

Alba, A. (1996). En busca del primer empleo: el precio de la experiencia.

Alerany, C., Armellini, A., Bosó, V., Calvo, G., Cruz, E., Diego, L., Ferreira Lino Santos Mendonça, V. M., García-Foncillas, J., Hidalgo, Á., Lens, C., del Llano, J., March, J. C., Monterde, J., de Mora, F., Poveda, J. L., Rey-Biel, P., Rodríguez de la Cuerda, Á. L., Rodrigo, J., Ruiz, S., ... Vicente, P. (2014). LIBRO BLANCO DE LOS MEDICAMENTOS BIOSIMILARES EN ESPAÑA: CALIDAD SOSTENIBLE La garantía del acceso universal a medicamentos clave (Fundación Gaspar Casal ed., Vol. 1) [Libro electrónico].

Asociación Española de Biosimilares. B. (2016, 23 marzo). ¿Qué es la intercambiabilidad? | BioSim. Biosim. <https://www.biosim.es/que-es-la-intercambiabilidad/>

Beckman Coulter (2014). Manual de usuario. Beckman Coulter. <https://www.beckmancoulter.com/wsrportal/techdocs?docname=A51963.pdf>

Bedson, P., y Sargent, M. (1996). The development and application of guidance on equipment qualification of analytical instruments. *Accreditation and Quality Assurance*, 1(6), 265-274.

Bibel, B. (2019, 10 agosto). SDS-PAGE (Sodium DodecylSulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis). *The Bumbling Biochemist*. <https://thebumblingbiochemist.com/365-days-of-science/sds-page/>

Bolli, G. B., y Owens, D. R. (2000). Insulin glargine. *The Lancet*, 356(9228), 443-445.

Burgess, C., y Jones, D. G. (1998). Equipment qualification for demonstrating the fitness for purpose of analytical instrumentation†. *The Analyst*, 123(9), 1879-1886.

Calidad, C. P. Z. |. (2020, 28 abril). Calificación de equipos en plantas de producción farmacéuticas. *Quality By Design*. <https://www.qbd.lat/blog/calificacion-de-equipos/>

Castagnino, J. M. (2000). Electroforesis capilar. *Bioquímica*, 25(1), 13-32.

Corbillón, L. M., Texidor, R. F., y Seino, D. G. (2020). Los sistemas computarizados: la industria farmacéutica y sus regulaciones. *Revista Cubana de Ingeniería*, 10(3).

Davies, M., Dahl, D., Heise, T., Kiljanski, J., y Mathieu, C. (2017). Introduction of biosimilar insulins in Europe. *Diabetic Medicine*, 34(10), 1340-1353.

De Luis, D. A., y Romero, E. (2013). Análogos de insulina: modificaciones en la estructura, consecuencias moleculares y metabólicas. *SEMERGEN - Medicina de Familia*, 39(1), 34-40. <https://doi.org/10.1016/j.semerg.2012.04.010>

De Salud, L. G., y UNICO, C. (2012). *Ley General de Salud. Medicamentos. Capítulo IV, Artículo, Bis 222.*

De Salud, S. (2018, junio 24). Normas Oficiales Mexicanas. Recuperado 17 de mayo de 2020, de <https://www.gob.mx/salud/en/documentos/normas-oficiales-mexicanas-9705>

Dorantes Calderón, B., y Montes Escalante, I. M. (2010). Medicamentos biosimilares. Controversias científicas y legales. *Farmacia Hospitalaria*, 34, 29-44.

Doroteo, M. C. (2012). Principios básicos de electroforesis capilar: técnica analítica de separación de analitos. *Investigación en discapacidad*, 1(2), 86-89.

Dranitsaris, G., Amir, E., y Dorward, K. (2011). Biosimilars of Biological Drug Therapies. *Drugs*, 71(12), 1527-1536.

Dudzinski, D. M., y Kesselheim, A. S. (2008). Scientific and legal viability of follow-on protein drugs. *The New England journal of medicine*, 358(8), 843-849.

Ewing, A. G., Wallingford, R. A., y Olefirowicz, T. M. (1989). Capillary electrophoresis. *Analytical Chemistry*, 61(4), 292A-303A.

Escobedo-Moratilla, A., Kuri-Breña Romero de Terreros, F., Pérez-Urizar, J., y Barba de la Rosa, A. P. (2015). Analytical and Biological Characterization of a Noninnovator Insulin Glargine and the Originator Drug Product. *Journal of Diabetes Science and Technology*, 10(2), 616-617.

European Medicines Agency. (2012). Questions and answers on biosimilar medicines (similar biological medicinal products). EMA/837805/2011.

European Patients' Academy, E. (2016, noviembre 9). Sustancia farmacológica. Recuperado 14 de marzo de 2020, de <https://www.eupati.eu/es/glossary/sustancia-farmacologica/>

Exchange, S. (2012, 16 junio). What is the meaning of orthogonal in validation testing? <https://stats.stackexchange.com/questions/30592/what-is-the-meaning-of-orthogonal-in-validation-testing>

Falconer, R. J., Jackson-Matthews, D., y Mahler, S. M. (2011). Analytical strategies for assessing comparability of biosimilars. *Journal of Chemical Technology y Biotechnology*, 86(7), 915-922.

Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM),(2018). Doudécima edición. México: Secretaría de salud, Comisión permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Método MGA 0312.Electroforesis capilar.

Fundamentos de electroforesis capilar y aplicaciones. (2017, 10 julio). ppt video online descargar. <https://slideplayer.es/slide/2724400/>

Food and Drug Administration. (1997). Code of Federal Regulations Title 21: Food and drugs chapter I-Food and drug administration department of health and human services subchapter a-general-Part 11: Electronic records; electronic signatures.

Furman, B. L. (2007). Glargine Insulin. *xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference*, 1-2.

Gallaga Solórzano, J. C., Lara Méndez, M., d. e., l. a., L., Martínez Martínez, A., Pomares Millán, H., y Valencia Pérez-Rea, L. R. (2016, agosto). REVISTA COFEPRIS | Protección y salud. <http://revistacofepris.salud.gob.mx>

Ghosh, S., Bose, S., Gowda, S., y Mukhopadhyay, P. (2019). Biosimilar insulins – What a clinician needs to know? Indian Journal of Endocrinology and Metabolism, 23(4), 400.

Gordon, M. J., Huang, X., Pentoney, S. L., y Zare, R. N. (1988). Capillary Electrophoresis. Science, 242(4876), 224-228.

Guzman, E. (2016, 31 marzo). 8.2. SDS PAGE - Enzinetico UPIIG. Enzinetico Instituto Politecnico Nacional, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Ingeniería Campus Guanajuato. <https://sites.google.com/site/enzineticipiig/sds-page>

Herrero Ambrosio, A. (2010). Biosimilares: situación regulatoria para su autorización. Farmacia Hospitalaria, 34, 16-18.

Hnasko, T. S., y Hnasko, R. M. (2015). The Western Blot. Methods in Molecular Biology, 87-96.

Huang, T., Long, M., y Huo, B. (2010). Competitive binding to cuprous ions of protein and BCA in the bicinchoninic acid protein assay. The open biomedical engineering journal, 4, 271.

Huber, L. (1995). Validation of computerized analytical systems. Interpharm Press (an IHS Health Group Company).

Hunt, G., Hotaling, T., y Chen, A. B. (1998). Validation of a capillary isoelectric focusing method for the recombinant monoclonal antibody C2B8. Journal of Chromatography A, 800(2), 355-367.

Hwang, H.-G., Kim, K.-J., Lee, S.-H., Kim, C.-K., Min, C.-K., Yun, J.-M., Son, Y.-J. (2016). Recombinant Glargine Insulin Production Process Using Escherichia coli. Journal of Microbiology and Biotechnology, 26(10), 1781-1789.HERR

ICH. ICH Harmonised Tripartite Guideline Derivation and Characterisation of Cell Substrates used For Production of Biotechnological/Biological Products Q5D (1997).

ICH. ICH Harmonised Tripartite Guideline Development and Manufacture of Drug Substances (Chemical Entities and Biotechnological/Biological Entities) Q11 (2012).

ICH. ICH Harmonised Tripartite Guideline Photostability Testing of New Active Substances and Medicinal Products Q1B (1998).

ICH. ICH Harmonised Tripartite Guideline Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals S6 (R1) (2011).

ICH. ICH Harmonised Tripartite Guideline Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for Biotechnological/Biological Products Q6B (1998).

ICH. ICH Harmonised Tripartite Guideline Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q 2 (R1) (1995).

Iglesias-Osma, M. C., Correa, J. A. G., Moreno, U., y Tejerina, T. (2013). Desarrollo y Regulación de Medicamentos Biotecnológicos. Actualidad en Farmacología y Terapéutica, 11(4), 223-228.

Johnson, P. E. (2008). Implications of biosimilars for the future. American Journal of Health-System Pharmacy, 65(14_Supplement_6), S16-S22.

Jones, D. (1998). Equipment qualification for demonstrating the fitness for purpose of analytical instrumentation. Analyst, 123(9), 1879-1886.

Jordan, D. (2014). An overview of the Common Technical Document (CTD) regulatory dossier. Medical Writing, 23(2), 101-105.

Juárez, L. E., (2012). Validación del software Empower 2 para asegurar la funcionalidad de un HPLC (Cromatógrafo de Líquidos de Alta Resolución).

Julio, M. (2020, 27 enero). Entrevista Validación de Sistemas Computarizados | PQE Group - Español. Recuperado 20 de junio de 2020, de <https://www.pqegroup.com/es-es/blog/2020/02/validacion-de-sistemas-computarizados-entrevista/>

Kahle, J., y Wätzig, H. (2018). Determination of protein charge variants with (imaged) capillary isoelectric focusing and capillary zone electrophoresis. *ELECTROPHORESIS*, 39(20), 2492-2511.

Kilár, F. (2003). Recent applications of capillary isoelectric focusing. *ELECTROPHORESIS*, 24(2223), 3908-3916.

Kim, Y. S., Choi, B. W., Yang, S. W., Shin, S. M., Nam, S. W., Roh, Y. S., Lee, J. Y., Lee, K. J., Kim, Y. J., Kwon, J.-Y., y Kim, D.-I. (2014). Biosimilars: Challenges and path forward. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 19(5), 755-765.

Kurien, B. T., y Scofield, R. H. (2015). Western Blotting: An Introduction. *Methods in Molecular Biology*, 17-30, *Methods in Molecular Biology*, vol. 1312, © Springer Science+Business Media New York 2015

Landsteiner Scientific. (2016, Agosto 20). Recuperado 2 de febrero de 2020, de http://www.landsteiner.com/es_mx/index.php.

Landsteiner Scientific. (2020, Agosto 13). Recuperado 13 de agosto de 2020, de http://www.landsteiner.com/es_mx/index.php.

Laosa, O., Guerra, P., López-Durán, J. L., Mosquera, B., y Frías, J. (2009). Estudios de bioequivalencia: la necesidad de establecer la fiabilidad de los medicamentos genéricos. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 26(4), 553-562.

Le Vacon, F. (2005). Material Qualification (Equipment qualification). *Clinical and Biological Transfusion*, 12(2)

Ledford, H. (2007). Biotechs go generic: the same but different. *Nature*, 449(7160), 274-276.

Litovchick, L. (2018). Immunoblotting: Transfer of Proteins from Gels to Membranes. Cold Spring Harbor Protocols, 2018(10), pdb.prot098442.

López, O. (2019). 21 CFR part 11: Complete guide to international computer validation compliance for the pharmaceutical industry. CRC Press.

López-Morales, C. A., Tenorio-Calvo, A., Cruz-Rodríguez, R., Sánchez y Tepoz, J., Belgharbi, L., Pérez-Tapia, S. M., y Medina-Rivero, E. (2018). Regulatory Pathway for Licensing Biotherapeutics in Mexico. *Frontiers in Medicine*, 5.

Mack, S., Cruzado-Park, I., Chapman, J., Ratnayake, C., y Vigh, G. (2009). A systematic study in CIEF: Defining and optimizing experimental parameters critical to method reproducibility and robustness. *ELECTROPHORESIS*, 30(23), 4049-4058.

Martín, R. M. (2003). La inserción laboral de los universitarios a través de las prácticas en empresas. *Reis*, 229-254.

Matar, P. (2008). Biofármacos y Biosimilares. Riesgos y desafíos en los nuevos desarrollos. *Hematología*, 12(2), 57-59.

Melmed, S., Polonsky, K. S., Larsen, P. R., y Kronenberg, H. M. (2015). *Williams Textbook of Endocrinology E-Book*. Elsevier Health Sciences.

Meyer, C., y Schwager, A. (2007). Comprendiendo la experiencia del cliente. *Harvard Business Review*, 85(2), 89-99.

Molzon, J. (2003). The Common Technical Document: the changing face of the New Drug Application. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2(1), 71-74.

Ni, D., Xu, P., y Gallagher, S. (2017). Immunoblotting and Immunodetection. *Current Protocols in Cell Biology*, 74(1), 6.2.1-6.2.37.

Olson, B. J. S. C. (2016). Assays for Determination of Protein Concentration. *Current Protocols in Pharmacology*, 73(1), Suplemento 73.

Osatinsky, R. (2007). ¿Qué es la electroforesis capilar?. *Bioquímica y patología clínica*, 71(2), 60-6.

Parr, M. K., Montacir, O., y Montacir, H. (2016). Physicochemical characterization of biopharmaceuticals. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 130, 366-389.

Pasina, L., Casadei, G., y Nobili, A. (2016). Biological agents and biosimilars: Essential information for the internist. *European Journal of Internal Medicine*, 33, 28-35.

Peña Valenzuela, I. M. (2010). Implementación de un plan general de calificación de equipos analíticos y desarrollo de calificaciones en un laboratorio de control de calidad.

Registrar Corp. (2020, febrero 18). U.S. FDA Drug Definitions. Recuperado 14 de marzo de 2020, de <https://www.registrarcorp.com/definitions/>

Reichert, W. N., Waldschitz, D., Herwig, C., y Neutsch, L. (2016). Bioprocess monitoring: minimizing sample matrix effects for total protein quantification with bicinchoninic acid assay. *Journal of Industrial Microbiology y Biotechnology*, 43(9), 1271-1280.

Riquelme, G. (1991). Trabajo de jóvenes universitarios:¿ búsqueda de experiencia o empleo precario?(Un análisis para la ciudad de Buenos Aires). *Estudios del Trabajo*, (2).

Rodríguez Martínez, Z. (2013, agosto 20). REVISTA COFEPRIS | Protección y salud. Recuperado 7 de marzo de 2020, de <http://revistacofepris.salud.gob.mx/n/no6/expertos.html>.

Rodriguez-Diaz, R., Wehr, T., y Zhu, M. (1997). Capillary isoelectric focusing. *Electrophoresis*, 18(12-13), 2134-2144.

Salud S d. NORMA Oficial Mexicana NOM-059-SSA1-2015, Buenas Prácticas de Fabricación de Medicamentos (2016).

Salud S d. NORMA Oficial Mexicana NOM-257-SSA1-2014, En Materia de Medicamentos Biotecnológicos (2014).

Salud SD. NORMA Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-2013, Que Establece las Pruebas y Procedimientos Para Demostrar que un Medicamento es Intercambiable. Requisitos a Que Deben Sujetarse los Terceros Autorizados Que Realicen las Pruebas de Intercambiabilidad. Requisitos Para Realizar los Estudios de Biocomparabilidad. Requisitos a que deben sujetarse los Terceros Autorizados, Centros de Investigación o Instituciones Hospitalarias que realicen las pruebas de biocomparabilidad (2013).

Sigvardson, K. W., Manalo, J. A., Roller, R. W., Saless, F., y Wasserman, D. (2001). Laboratory equipment qualification. *Pharmaceutical technology*, 25(10), 102-109.

Skrlin, A., Radic, I., Vuletic, M., Schwinke, D., Runac, D., Kusalic, T., Paskvan, I., Krsic, M., Bratos, M., y Marinc, S. (2010). Comparison of the physicochemical properties of a biosimilar filgrastim with those of reference filgrastim. *Biologicals*, 38(5), 557-566.

Smith, P.K., Krohn, R.I., Hermanson, G.T., Mallia, A.K., Gartner, F.H., Provenzano, M.D., Fujimoto, E.K., Goeke, N.M., Olson, B.J., and Klenk, D.C. 1985. Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Anal. Biochem.* 150:76-85

Sörgel, F., Schwebig, A., Holzmann, J., Prasch, S., Singh, P., y Kinzig, M. (2015). Comparability of Biosimilar Filgrastim with Originator Filgrastim: Protein Characterization, Pharmacodynamics, and Pharmacokinetics. *BioDrugs*, 29(2), 123-131.

Suazo, T. (2012). Validación del Sistema computarizado del analizador "TOC".

Suba, D., Urbányi, Z., y Salgó, A. (2015). Capillary isoelectric focusing method development and validation for investigation of recombinant therapeutic monoclonal antibody. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 114, 53-61.

Sullivan, P. M., y DiGrazia, L. M. (2012). Analytic characterization of biosimilars. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 74(8), 568-579. <https://doi.org/10.2146/ajhp150971>

Tamizi, E., y Jouyban, A. (2015). The potential of the capillary electrophoresis techniques for quality control of biopharmaceuticals-A review. *ELECTROPHORESIS*, 36(6), 831-858.

Tokman, V. (2003). Desempleo juvenil en el Cono Sur. Santiago de Chile: Fundación Friedrich Ebert.

Van Eeckhaut, A., y Mangelings, D. (2015). Toward greener analytical techniques for the absolute quantification of peptides in pharmaceutical and biological samples. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 113, 181-188.

Vendrely, C., y Scheibel, T. (2007). Biotechnological Production of Spider-Silk Proteins Enables New Applications. *Macromolecular Bioscience*, 7(4), 401-409.

Walker, J. M. (2002). *The Protein Protocols Handbook* (2.a ed.). Humana Pr.

Weiser, J. R., Ricapito, N. G., Yueh, A., Weiser, E. L., y Putnam, D. (2012). A mechanistic analysis of the quantitation of α -hydroxy ketones by the bicinchoninic acid assay. *Analytical Biochemistry*, 430(2), 116-122.

Wiechelman, K. J., Braun, R. D., y Fitzpatrick, J. D. (1988). Investigation of the bicinchoninic acid protein assay: identification of the groups responsible for color formation. *Analytical biochemistry*, 175(1), 231-237.

Winter, W. (2003). CFR 11 Revisited: Risk-Based Approach for Networked System Compliance and the Role of Network Qualification. *BioProcess Int*, 1(6).

Winter, W. (2006). *Analytical Instrument Qualification*. BioProcess International.

Yang, P.-C., y Mahmood, T. (2012). Western blot: Technique, theory, and trouble shooting. *North American Journal of Medical Sciences*, 4(9), 429.

Zilberstein, G., Korol, L., Righetti, P. G., y Bukshpan, S. (2007). SDS-PAGE Focusing: Preparative Aspects. *Analytical Chemistry*, 79(22), 8624-8630.

Zuñiga, L., y Calvo, B. (2009). Regulatory aspects of biosimilars in Europe. *Trends in biotechnology*, 27(7), 385-387.