

# MÉTODOS MICROBIOLÓGICOS ALTERNATIVOS: REVISIÓN DEL PROCESO DE VALIDACIÓN PARA LA IMPLEMENTACIÓN EN LA INDUSTRIA FARMACÉUTICA

## Alternatives microbiological methods: review of the validation process for the implementation in the pharmaceutical industry

Ana L. Canil<sup>a,b</sup>, María L. Guffanti<sup>a,b</sup>, Leonardo D. Verón<sup>a,b</sup>, Regina F. Zaccardo<sup>a,b</sup>,  
Lucía Bitonte<sup>a,b</sup>, Gastón E. Mariani<sup>a,b</sup>, Yanina I. Rodríguez<sup>b</sup>.

*a. Servicio de Laboratorio Microbiológico;*

*b. Departamento de Laboratorio Nacional de Control; Dirección de Fiscalización y Gestión de Riesgos;  
Instituto Nacional de Medicamentos; Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica.*

**Contacto:** [ana.canil@anmat.gob.ar](mailto:ana.canil@anmat.gob.ar)

Recibido: 3 de febrero de 2020. Aprobado: 20 de abril de 2020.

### RESUMEN

Los métodos clásicos o tradicionales utilizados para el control microbiológico de medicamentos fueron desarrollados hace más de un siglo y se continúan utilizando ya que cumplen con su función de enumerar e identificar microorganismos, contribuyendo a controlar la seguridad microbiológica de los productos farmacéuticos. Estos métodos, tienen la principal desventaja de requerir prolongados tiempos de incubación por lo que, con la intención de resolver este punto y otras limitaciones, se desarrollaron nuevas tecnologías con distintas estrategias para la detección microbiana. El objetivo del presente trabajo fue analizar y discutir acerca de los procesos de validación de métodos microbiológicos alternativos y su implementación en el control de calidad de productos farmacéuticos. Las tecnologías utilizadas en los métodos microbiológicos alternativos pueden clasificarse en detección temprana basada en la actividad metabólica, medición directa de células, o basados en la medición de biomoléculas. Los parámetros críticos a evaluar son exactitud, precisión, especificidad, límite de detección y cuantificación, linealidad y rango, robustez y equivalencia; su determinación dependerá de la categoría del ensayo: cualitativo/cuantitativo. Las guías analizadas presentan lineamientos generales sobre el análisis de estos atributos, evidenciándose leves diferencias en la terminología, procedimientos de validación, interpretación de datos, criterios de aceptación y uso de métodos estadísticos. Según surge de la revisión realizada, se destaca el requisito de contar con procedimientos de ensayo detallados, con el fin de establecer los atributos de validación para productos farmacéuticos.

**Palabras clave:** control microbiológico, métodos rápidos, análisis de riesgo.

### ABSTRACT

The traditional methods used for the microbiological quality control of medicines were developed more than a century ago and they continue being used since they fulfill the role to enumerate and identify microorganisms, providing microbiological safety of pharmaceutical products. These methods have the main disadvantage of requiring long incubation times, therefore, with the intention of solving this point and other limitations, new technologies were developed. The objective of this work was to analyze and discuss the validation processes of alternative microbiological methods and their implementation in the quality control of pharmaceutical products. The technologies used in alternative microbiological methods can be classified as: early detection based on metabolic activity, direct measurement of cells, or based on the measurement of biomolecules. The critical parameters to evaluate are accuracy, precision, specificity, limit of detection and quantification, linearity and range, robustness and equivalence; its determination will depend on the category of the assay: qualitative / quantitative. The consulted bibliography presents general guidelines on the analysis of these attributes, showing slight differences in terminology, validation procedures, data interpretation, acceptance criteria and use of statistical methods. To summarize, this review highlights the importance of using detailed test procedures, in order to establish the validation attributes for pharmaceutical products.

**Keywords:** microbiological control, rapid methods, risk analysis.

## INTRODUCCIÓN

Los métodos tradicionales utilizados para el control microbiológico de productos farmacéuticos que figuran en las farmacopeas fueron desarrollados hace más de un siglo y se continúan utilizando en la actualidad ya que cumplen exitosamente con su función de cuantificar e identificar microorganismos<sup>[1]</sup>. A pesar de que estos ensayos pueden desarrollarse en cualquier laboratorio de microbiología, su principal desventaja reside en los prolongados tiempos de incubación (5 a 7 días para el control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles y al menos 14 días para el ensayo de esterilidad)<sup>[2,3]</sup>. Esto impacta en la celeridad en la toma de medidas correctivas y en la velocidad de liberación de los lotes, lo cual puede repercutir en la rentabilidad de los productos. Otro punto desfavorable de los métodos tradicionales es que están sujetos a la percepción visual de cada analista, lo que hace que la precisión y la sensibilidad se vean limitadas a la subjetividad del operador.

Intentando resolver algunas de estas desventajas surgieron los métodos alternativos. Un método microbiológico alternativo es un procedimiento analítico moderno o rápido, diferente al tradicional basado en el crecimiento microbiano (como el recuento en placa o la recuperación en caldo); el método alternativo o rápido puede utilizar diferentes tecnologías de instrumentación (equipos) y aplicaciones informáticas (“software”) para gestionar los ensayos y el análisis de datos<sup>[4]</sup>. Estos han sido incorporados con cierto éxito a la industria farmacéutica de otros países, encontrándose lineamientos para su validación y consecuente aplicación en farmacopeas internacionalmente reconocidas como la Farmacopea Europea (EP, por sus siglas en inglés)<sup>[1]</sup> y la Farmacopea de los Estados Unidos (USP, por sus siglas en inglés)<sup>[4]</sup>. Asimismo, en Argentina, como así también en otras partes del mundo, el fundamento de estas tecnologías ha sido aplicada en otros campos, tales como la industria alimenticia, el área clínica o en el ámbito de investigación; siendo su aplicación en la industria farmacéutica incipiente. El objetivo del presente trabajo fue analizar y discutir acerca de los procesos de validación de métodos microbiológicos alternativos y su implementación en el control de calidad de productos farmacéuticos.

## IMPLEMENTACIÓN DE MÉTODOS MICROBIOLÓGICOS ALTERNATIVOS

Existen tres tipos principales de los métodos alternativos: cualitativos (CL), aquellos que informan presencia/ausencia de microorganismo; cuantitativos (CT), que indican cantidad de células o unidades formadoras de colonias (UFC) y los de identificación, que permiten caracterizar a los microorganismos según género y especie. A su vez, se clasifican según el fundamento de la medición y pueden estar basados en la detección directa de células, en el crecimiento o en la medición de biomoléculas ya sea por técnicas fenotípicas o genotípicas; existiendo para las distintas categorías varios ejemplos (Tabla 1)<sup>[1,4,5]</sup>.

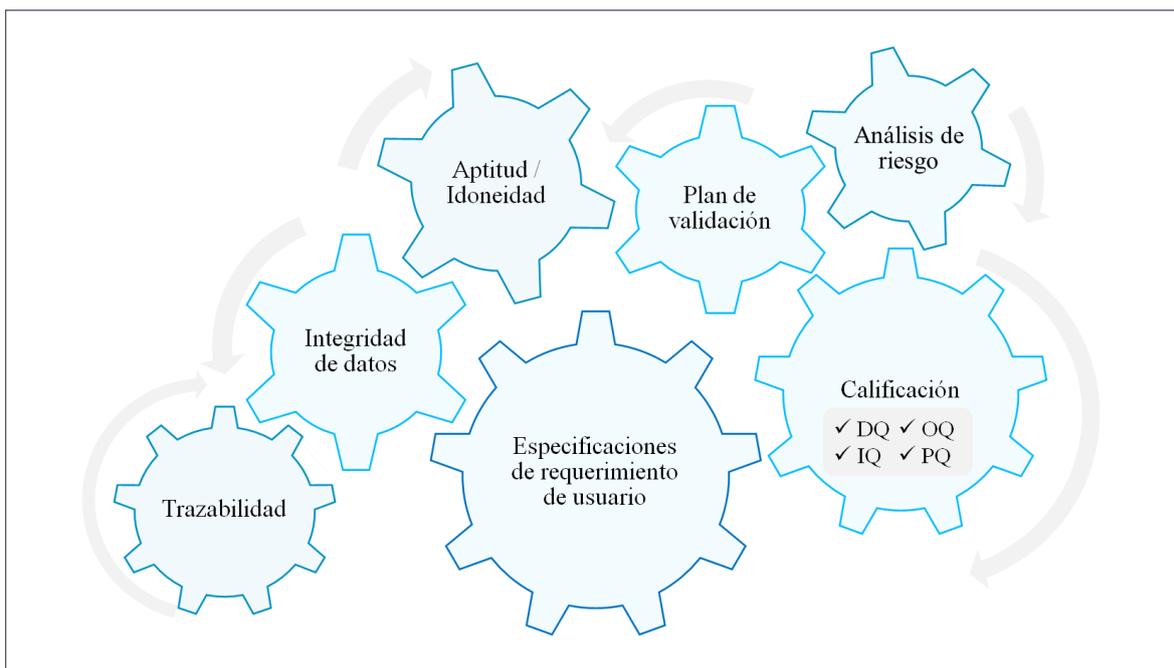
Los posibles campos de aplicación para esta nueva tecnología son diversos tales como control microbiológico de productos terminados, ensayo de desafío de conservantes, microbiología analítica y control ambiental, de procesos o materias primas e investigación de microorganismos.

Las buenas prácticas de control de calidad requieren que los métodos empleados para evaluar las especificaciones establecidas sean apropiados, por lo cual debe demostrarse documentalmente que son aptos para el uso propuesto<sup>[6-8]</sup>.

La validación de los métodos alternativos es abordada como un proceso integral (Figura 1) que comienza con un análisis de riesgo de la aplicación de la tecnología, las especificaciones de requerimiento de usuario, la calificación del equipo, la validación propiamente dicha y la aptitud, en la cual se debe demostrar la falta de inhibición por parte de los productos<sup>[1,4,5]</sup>. Todo este proceso debe ser realizado por el usuario, luego de revisar exhaustivamente la validación primaria llevada a cabo por el proveedor. En esta validación primaria debe estar correctamente caracterizado el principio de detección, las condiciones requeridas para su aplicación y la señal esperada, así como también, la variedad de microorganismos ensayados, la cual debe ser apropiadamente extensa<sup>[1]</sup>.

**TABLA 1:** MÉTODOS MICROBIOLÓGICOS ALTERNATIVOS, CLASIFICADOS SEGÚN FUNDAMENTO.

Basados en crecimiento o actividad metabólica	Basados en medición directa o basado en viabilidad	Basados en el análisis de biomoléculas por técnicas fenotípicas	Basados en el análisis de biomoléculas por técnicas genotípicas
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Electroquímico</li> <li>- Medición de consumo o producción de gas</li> <li>- Bioluminiscencia</li> <li>- Turbidimétrico</li> <li>- Detección de crecimiento usando medios selectivos o diferenciales</li> <li>- Microcalorimetría</li> <li>- Fluorescencia por excitación</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Citometría en fase sólida</li> <li>- Citometría de flujo</li> <li>- Técnica de filtro epifluorescente directo (DEFT)</li> <li>- Espectroscopia de RAMAN</li> <li>- Autofluorescencia</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Métodos inmunológicos</li> <li>- Perfiles de ácidos grasos</li> <li>- Espectroscopía infrarroja transformada de Fourier (FTIR)</li> <li>- Espectrometría de masa</li> <li>- Ensayos bioquímicos basados en reacciones fisiológicas</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Hibridación directa</li> <li>- Técnicas de amplificación de ácidos nucleicos</li> <li>- Huella digital genética</li> <li>- Secuenciación genética</li> <li>- Análisis del rARN</li> </ul>



**FIGURA 1:** ESQUEMA DEL PROCESO DE VALIDACIÓN DE MÉTODOS MICROBIOLÓGICOS ALTERNATIVOS.

La introducción de un nuevo método de control debe basarse en un análisis de riesgo asociado a la implementación de éste<sup>[1,3]</sup>. Para ello, debe considerarse la información obtenida por los métodos farmacopeicos y los alternativos, las limitaciones y ventajas de ambos, la tecnología implicada, el fundamento de la medición, los productos específicos a ser analizados, los procedimientos requeridos, la expresión de resultados, la capacitación del personal, la rentabilidad, entre otros.

Una vez decidida la incorporación de un método microbiológico alternativo, se debe confeccionar un documento conocido como especificaciones de requerimiento de usuario (URS, por sus siglas en inglés), en el cual se describen los alcances del método<sup>[1,4,5]</sup>. El contenido de este documento, debe estar en concordancia con los lineamientos de farmacopeas, guías internacionales y normativa vigente, referidos al control de calidad<sup>[5]</sup>. El URS debe incluir información sobre las condiciones operacionales, ambientales e informáticas, así como los soportes o mantenimientos necesarios. Respecto al método debe explicitar límites de detección y/o cuantificación, tiempos de respuesta, tamaño y tipo de muestra a analizar, entre otros<sup>[1,4,5]</sup>.

El equipo a incorporar para la aplicación del método alternativo requiere una calificación. Esta involucra la calificación de diseño (DQ), en la que se verifica si el diseño es adecuado para los propósitos destinados; la calificación de instalación (IQ), es decir, la demostración de que el equipo ha sido satisfactoriamente instalado en el laboratorio; la calificación operacional (OQ), verificación de que el sistema o partes relevantes del mismo trabajan bajo los límites operacionales predeterminados; y la calificación de desempeño (PQ), que implica demostrar en forma documentada que el equipo produce un resultado apropiado cuando opera de acuerdo con las especificaciones del proceso. Este último punto muchas veces se realiza con la validación<sup>[8,9]</sup>. Los criterios de aceptación deben ser definidos en función de la aplicación.

La validación destinada al uso consiste en verificar la aplicabilidad del método para lograr el fin propuesto abarcando el proceso completo. Los parámetros críticos a evaluar dependen de la categoría CL/CT del ensayo y son los siguientes: exactitud, precisión, especificidad, límite de detección, límite de cuantificación, linealidad, rango, robustez y equivalencia. Cabe destacar que las guías analizadas presentan lineamientos generales sobre el análisis de estos atributos, evidenciándose leves diferencias en la terminología, procedimientos, interpretación de datos, criterios de aceptación y uso de métodos estadísticos. Cada uno de estos parámetros debe ser tenido en cuenta desde el punto de vista microbiológico, para lo cual se debe considerar:

(A) Especificidad: para métodos CT es la capacidad de cuantificar sólo el microorganismo diana, mientras que para métodos CL se refiere a la capacidad de detectar sólo los microorganismos target, por ejemplo, los viables. En ambos casos no deben generarse falsos positivos asegurando que el sistema no genera interferencias. Se determina usando un panel apropiado de microorganismos; siendo relevante para esta prueba el uso de mezclas de microorganismos<sup>[1,4,5]</sup>.

(B) Exactitud: es la “cercanía” de los resultados obtenidos entre el nuevo método y el método farmacopeico, aplicando un análisis estadístico. Se debe demostrar a lo largo de todo el rango de trabajo y se expresa generalmente como porcentaje de recuperación (nuevo/compendiado)<sup>[1,4,5]</sup>.

(C) Precisión: es el grado de concordancia entre un resultado de un ensayo individual cuando el procedimiento es repetidamente aplicado a múltiples muestras de suspensiones homogéneas de microorganismos, bajo las mismas condiciones. La precisión se divide en repetibilidad (expresa la precisión bajo las mismas condiciones operativas en un intervalo de tiempo corto),

precisión intermedia (expresa las variaciones intralaboratorio: diferentes días, analistas, equipos, etc.) y reproducibilidad (expresa la precisión entre laboratorios como los estudios colaborativos)<sup>[1,6,7,11]</sup>. Generalmente, la precisión se expresa como desvío estándar o coeficiente de variación (CV%). El CV% de un método nuevo debe ser inferior o comparable al compendiado; en este sentido, el intervalo de confianza del método nuevo debe estar comprendido en el intervalo de confianza del método tradicional<sup>[1]</sup>.

La farmacopea EP se refiere a la determinación de la precisión sólo para los métodos CT y lo divide en repetibilidad y precisión intermedia<sup>[1]</sup>.

El término en inglés “ruggedness” es utilizado en la bibliografía internacional y, lejos de referirse a robustez, se aplica a la definición del atributo precisión. Sin embargo, existen diferencias entre las guías consultadas. La USP define “ruggedness” como precisión intermedia. Según dicha farmacopea, esta determinación y la repetibilidad debe realizarse para ambos tipos de métodos CL y CT<sup>[4]</sup>. Por otra parte, el documento técnico N° 33 de Parenteral Drug Association (PDA, por sus siglas en inglés), del año 2013, refiere con esta palabra a la precisión intermedia y a la reproducibilidad, debiendo ser calculadas para ambos tipos de métodos; y reserva “precisión” para la repetibilidad, aplicada únicamente a métodos CT<sup>[5]</sup>.

(D) Límite de detección: Este atributo refiere al número más bajo de microorganismos en una muestra capaz de ser detectado bajo condiciones analíticas establecidas. En este punto, es importante resaltar que esta cantidad refleja el número de microorganismos presentes en una muestra original antes de cualquier paso de dilución o de incubación. Es crítico que este límite no sea superior al del método compendiado<sup>[1]</sup>.

Respecto de este atributo también encontramos algunas diferencias en la bibliografía. La farmacopea EP define este parámetro para métodos CL y deja abierta la posibilidad de que, en algunos casos, puede requerirse para los métodos CT<sup>[1]</sup>. Por otro lado, la farmacopea USP plantea el requisito de la determinación del límite de detección para ambos tipos de metodologías; pero, solo están ejemplificados los métodos CL<sup>[4]</sup>. Asimismo, en el documento técnico N°33 de PDA también aparece este atributo para las metodologías CT y CL<sup>[5]</sup>.

(E) Límite de cuantificación: es el nivel o número más bajo de células o UFC en una muestra que puede ser cuantificado con una determinada precisión y exactitud. Los resultados de linealidad y exactitud pueden ser usados para definir este parámetro. Este tampoco debe ser mayor que el del método compendiado<sup>[1,4,5]</sup>.

(F) Linealidad: es la capacidad de producir resultados proporcionales a la concentración de microorganismos presentes en una muestra. Esto se comprueba por el análisis de regresión lineal<sup>[1]</sup>.

(G) Rango: es el intervalo entre la mayor y menor concentración de microorganismos, determinado con exactitud, precisión y linealidad. Se aplica a métodos CT<sup>[1,4,5]</sup>.

(H) Robustez: es un componente necesario de la validación del método para conocer los parámetros operacionales del mismo. Pueden realizarse pequeñas variaciones en el volumen de los

reactivos, en las temperaturas o en los tiempos de incubación, entre otros. Es adecuado que lo determine el proveedor (como parte de la validación primaria), teniendo en consideración que si el usuario modifica algún parámetro crítico el efecto sobre la robustez debe ser evaluado nuevamente<sup>[1,4,5]</sup>. Sin embargo, es responsabilidad del usuario realizar una revisión exhaustiva de la documentación aportada por el proveedor.

(I) Ensayo de equivalencia o testeo comparativo: es la medida de cuán similar es el método nuevo comparado con el existente. Se requiere que los dos métodos se ejecuten inicialmente en paralelo, incluso utilizando cultivos estandarizados (cultivos puros o mezclas de cultivos), para demostrar que se cumplen los criterios de validación previamente discutidos. Es importante destacar que se debe determinar la estrategia, duración y extensión del estudio comparativo, lo cual está influido por la naturaleza del método, el material analizado (muestras) y los métodos estadísticos<sup>[1,4,5]</sup>. En este sentido, es pertinente que este punto del plan de validación se realice en base a un análisis de riesgo. Los análisis estadísticos deben estar orientados a demostrar que el método nuevo es equivalente o mejor que el existente.

La farmacopea USP menciona cuatro opciones para demostrar equivalencia de un método alternativo con respecto al compendiado. En este sentido, los estudios pueden ser: basados en procedimientos aceptables (no es un estudio de equivalencia propiamente dicho, se fundamenta en el cumplimiento de los criterios de aceptación); desempeño equivalente (se evalúa similitud o superioridad respecto a los criterios de validación); resultados equivalentes (ambos métodos remiten los mismos resultados numéricos) y decisión equivalente (se compara la frecuencia de resultados cumple/no cumple o positivos/negativos obtenida por ambos métodos)<sup>[4]</sup>.

Si los resultados del método alternativo no se expresan en UFC, el test de equivalencia debe ser realizado utilizando un parámetro adecuado (por ejemplo, el procedimiento de determinación del número más probable), seguido del análisis estadístico para demostrar que los resultados entre ambos métodos conllevan a una inequívoca decisión<sup>[1,3]</sup>.

Para el análisis de datos en el ensayo de equivalencia puede resultar útil tabular los datos en un cuadro de doble entrada en el que se registren las frecuencias de respuestas positivas y negativas obtenidas con cada método (de referencia y alternativo). Por ejemplo, la norma 16140 del año 2016 de la Organización Internacional de Estandarización (ISO, por sus siglas en inglés), titulada “Microbiología de los alimentos para consumo humano y animal. Protocolo para la validación de métodos alternativos”, realiza esta estrategia que permite calcular la eficacia, la especificidad y la sensibilidad relativas al método de referencia; lo que posibilita determinar el grado de concordancia entre ambos métodos. En caso de existir desviaciones positivas o negativas debidas a una discordancia, se deberá recurrir a una técnica confirmatoria para dilucidar si corresponden a verdaderos positivos o negativos. En el caso de tener desviaciones positivas (es decir, el método propuesto brinda resultados positivos cuando el de referencia arroja uno negativo)

que luego son verificadas como verdadera contaminación, se puede considerar que este nuevo método presenta una ventaja respecto al codificado en cuanto a detección se refiere<sup>[10]</sup>.

En la **Tabla 2** se resume la aplicación de estos parámetros en la validación de métodos alternativos según EP<sup>[1]</sup>, USP<sup>[4]</sup> y el documento técnico N°33 de PDA<sup>[5]</sup>.

Respecto a la aptitud o test de idoneidad, para demostrar que el nuevo método es compatible con los productos, debe evaluarse que las matrices no interfieren dado que, de lo contrario, pueden obtenerse falsos positivos o falsos negativos<sup>[1,2,4,5]</sup>.

Para investigar la presencia de falsos positivos, deben incluirse los diluyentes usados, los productos con sus respectivas matrices y muestras estériles de las cuales se espera ausencia de señal. De estar presente una señal de base (“background noise”) esta debe ser completamente estudiada y de no poder eliminarse, se considerará aceptable sólo cuando no interfiera con las muestras utilizadas de forma rutinaria por el usuario final. Dependiendo de la metodología y del tipo de respuesta, es posible que deba evaluarse si se producen interferencias debido a detritos celulares o microorganismos muertos. Debe tenerse en cuenta que un resultado positivo en el método nuevo puede no ser detectado por el método tradicional, como es el caso de los microorganismos viables, pero no cultivables. Alternativamente, dichos resultados pueden requerir ser confirmados con una prueba complementaria. En todos los casos debe definirse si estos resultados positivos hacen al nuevo método incompatible con el producto a analizar<sup>[5]</sup>.

La generación de falsos negativos debe ser considerado un parámetro crítico que repercute en la inocuidad, seguridad y eficacia de las distintas formas farmacéuticas. Por ello, debe determinarse si el producto o la matriz disminuye, enmascara o previene de alguna manera la generación de la señal ya que afectaría la determinación de la presencia de microorganismos. La evaluación puede realizarse inoculando las muestras analizadas con una cantidad conocida de microorganismos y preparando un control positivo de manera análoga, sin el agregado del producto o matriz de interés, evaluándose ambas preparaciones en paralelo por el método nuevo. Por lo ante dicho, aquellas muestras que ocasionen resultados falsos negativos no podrán analizarse por este método propuesto<sup>[5]</sup>.

Una característica de muchos de los métodos microbiológicos alternativos es la generación o procesamiento de datos por medios informáticos. Esto puede presentar ventajas respecto a los métodos tradicionales compendiados en los cuales el registro de datos suele ser manual. Teniendo en cuenta todo lo anteriormente desarrollado, un método alternativo puede ser usado si supone una ventaja en términos de exactitud, sensibilidad, precisión, selectividad o adaptación a la automatización por un sistema computarizado de datos<sup>[4]</sup>. Asimismo, es responsabilidad del usuario proveer las evidencias de trazabilidad respecto de que todos los requerimientos de la validación han sido verificados y evaluados<sup>[5]</sup>.

Los datos obtenidos en el proceso de validación y en los controles de rutina deben ser completos, consistentes, precisos, atribuibles, legibles, contemporáneos, originales y

**TABLA 2: DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE VALIDACIÓN Y CRITERIOS DE APLICACIÓN EN MÉTODOS CLASIFICADOS COMO CUALITATIVOS (CL) O CUANTITATIVOS (CT).**

	Parámetro	EP		USP		PDA	
		CL	CT	CL	CT	CL	CT
<b>A</b>	Especificidad	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí
<b>B</b>	Exactitud	No*	Sí	No	Sí	No	Sí
<b>C</b>	Precisión						
	a-Repetibilidad	No	Sí	Sí	Sí	No	Sí
	b-Precisión Intermedia					Sí	Sí
c-Reproducibilidad	N/D	N/D	N/D	N/D			
<b>D</b>	Límite de detección	Sí	No	Sí	Sí	Sí	Sí
<b>E</b>	Límite de cuantificación	No	Sí	No	Sí	No	Sí
<b>F</b>	Linealidad	No	Sí	No	Sí	No	Sí
<b>G</b>	Rango	No	Sí	No	Sí	No	Sí
<b>H</b>	Robustez	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí
<b>I</b>	Equivalencia	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí

N/D: No definido \*Puede utilizarse en lugar del atributo Límite de Detección.

duraderos<sup>[12,13]</sup>. En este sentido, deben existir procedimientos que especifiquen la manera de asegurar la integridad de los datos, durante todo el ciclo de vida de los mismos, independientemente de la forma en la que se hayan generado y registrado. Además, el sistema de documentación debe diseñarse para cumplimentar los requisitos de buenas prácticas y garantizar que todos los documentos, procedimientos maestros y registros se revisen de manera efectiva. De esta manera, debe estar especificado cómo es la creación, revisión y aprobación de estos; la generación, distribución y control de plantillas utilizadas para el registro de datos o resultados; el proceso de archivado, recuperación, retención y disposición de los registros, entre otros<sup>[12,13]</sup>.

Para el caso de registros electrónicos, debe poder realizarse un seguimiento de auditoría (“audit trail”) que es una cronología del “quién, qué, cuándo y por qué” de un registro. Esto permite la reconstrucción del curso de los eventos en el tiempo, relacionados con la creación, modificación o eliminación de un registro electrónico. Por ejemplo, estos podrían incluir el nombre de usuario o analista, la fecha y hora de la ejecución, los detalles del procedimiento y la inclusión de la justificación de un cambio en las condiciones del método<sup>[12,13]</sup>.

Puntos estratégicos para lograr este resguardo de datos pueden ser evaluar si las personas que desarrollan, mantienen o utilizan los sistemas operativos presentan la capacitación y experiencia necesaria para realizar las tareas asignadas; limitar el acceso al sistema sólo al personal autorizado; utilizar comprobaciones del sistema operativo; establecer políticas escritas que responsabilizan a las personas por acciones iniciadas bajo sus firmas electrónicas, y otros requisitos relacionados con las mismas<sup>[14,15]</sup>.

## CONCLUSIÓN

Los métodos microbiológicos alternativos pueden resultar útiles para la detección de microorganismos en diferentes matrices. Según surge de la revisión realizada, se destaca el requisito de contar con procedimientos de ensayo detallados, con el fin de establecer los atributos de validación, para la aplicación en la industria farmacéutica.

Cada uno de estos atributos debe analizarse con un número suficiente de réplicas, de determinaciones independientes y de lotes de productos cuando corresponda. Los criterios de aceptación para el uso del método en la rutina deberán definirse en función de la aplicación y los datos de la validación, debiéndose cumplir la no inferioridad respecto al método compendiado. Este requisito está basado en la larga historia de los productos testeados y liberados con el método de referencia. Por esto mismo, el nuevo método deberá permitir tomar decisiones equivalentes respecto a la calidad microbiológica de los productos, materias primas, componentes, o etapas del proceso productivo en los que se aplique<sup>[1,4,5]</sup>.

Por otra parte, el método propuesto debe ser capaz de satisfacer la cantidad de muestra requerida para el ensayo y la calidad respecto a las especificaciones, de acuerdo a lo dispuesto en la normativa vigente<sup>[4]</sup>.

La mayoría de estas tecnologías se alinean con las buenas prácticas de control en cuanto a que incorporan softwares que permiten una mejor trazabilidad e integridad de datos. Esto define una verdadera ventaja respecto a los ensayos tradicionales codificados que se basan en el registro manual de los resultados. Así como el resto de los eslabones del proceso de validación, la evaluación de la seguridad de estos sistemas informáticos es de suma importancia, siendo preciso desafiarlos frente a posibles adulteraciones o secuestros de datos.

Es oportuno agregar que los métodos microbiológicos tradicionales descritos en las farmacopeas son entendidos como de referencia, lo que implica que ante cualquier disputa sólo el resultado obtenido usando el método compendiado es concluyente<sup>[4]</sup>.

Finalmente, es evidente la necesidad de continuar con los temas abordados a los fines de incorporar, a la Farmacopea Argentina, el capítulo correspondiente para este tipo de tecnologías. Este trabajo permite dar un primer paso abriendo un canal de diálogo con las partes interesadas, contribuyendo a la actualización de la microbiología industrial.

## BIBLIOGRAFÍA

- 1- <5.1.6> *Alternative methods for control of microbiological quality. European Pharmacopoeia 9th edition (EP 9.2)*; 2017.
- 2- <90> Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles. Farmacopea Argentina 7ma Edición; 2018.
- 3- <370> Ensayos de esterilidad. Farmacopea Argentina 7ma Edición; 2018.
- 4- <1223> *Validation of alternative microbiological method. United States Pharmacopoeial and National Formulary (USP 41- NF 36)*; 2018.
- 5- *Technical report N°33. Evaluation, validation and implementation of new microbiological testing methods. Parenteral Drug Association (PDA)*; 2013.
- 6- <1130> Validación de métodos analíticos. Farmacopea Argentina 7ma Edición; 2013.
- 7- <1225> *Validation of compendial procedures. United States Pharmacopoeial and National Formulary (USP 41- NF 36)*; 2018.
- 8- Anexo 5. Calificación y Validación. Guía de buenas prácticas de fabricación para elaboradores, importadores/exportadores de medicamentos de uso humano. Disposición ANMAT N° 3827/2018.
- 9- <475> Esterilización. Farmacopea Argentina 7ma Edición; 2013
- 10- Norma ISO 16140. Microbiología de los alimentos para consumo humano y animal. Protocolo para la validación de métodos alternativos. Organización Internacional de Normalización; 2016.
- 11- *Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology. 4° version, Guideline Q2 (R1). International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for human use (ICH)*; 2005.
- 12- *Data Integrity and Compliance With Drug CGMP Questions and Answers Guidance for Industry. Food and Drug Administration (FDA)*; 2018.
- 13- *Annex 5. Guidance on good data and record management practices. WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. 50° report. WHO technical report series; no. 996. World Health Organization (WHO)*; 2016.
- 14- *Guidance for Industry. Part 11, Electronic Records; Electronic Signatures - Scope and Application. Food and Drug Administration (FDA)*; 2003.
- 15- *Technical Report No. 80 Data Integrity Management System for Pharmaceutical Laboratories. Parenteral Drug Association (PDA)*; 2018.