

Validación de la técnica Analítica de determinación de proteínas totales por el método de Microcoomassie del producto CIGB-247.

Autores. Inalvis Herrera Rivas¹, Naybel Melgarejo Alvarado¹, Thalia Lambert de la Cruz¹, Aidy Columbie Rizo¹, Yoanna Viña Martínez¹, Maelys Miyares Estrada¹

1. INTRODUCCION (OBJETIVOS)

En el Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología se desarrolla el candidato vacunal CIGB-247 vacuna terapéutica para el tratamiento del cáncer. Para su uso clínico, este tipo de fármacos debe cumplir rigurosos estándares de calidad. El objetivo de este trabajo fue validar el método colorimétrico de Microcoomassie para la cuantificación del producto terminado de dicho fármaco

2. METODOLOGIA

Linealidad : Para determinar la linealidad del método se analizarán cinco curvas de concentraciones 5, 10, 15, 20 y 40 µg/mL, por duplicado, del material de referencia del ensayo .

Especificidad :El método fue específico, sin interferencias del placebo ni de la matriz.

Precisión del método: Se analiza mediante los ensayos de repetibilidad, precisión intermedia, reproducibilidad.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CECMED. Centro para el Control Estatal de la calidad de los Medicamentos'.
Validación de Métodos Analíticos ".Regulacion N_o.41, 2007.

-ICH Harmonised Tripartite Guideline. Validation of analltical procedures: Text and Methodolory. ICH, November.2005.

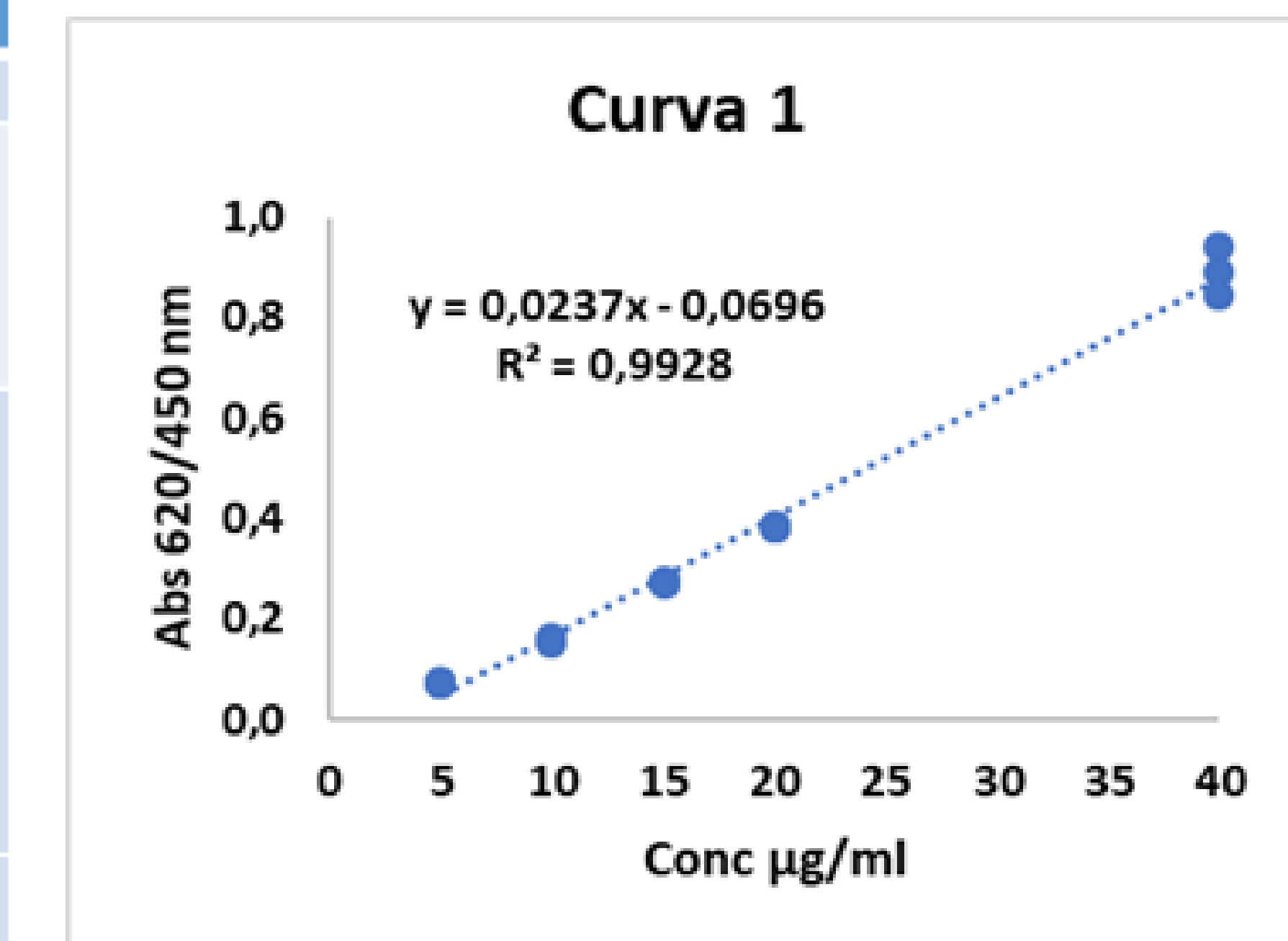
-Rojas E., Validación de Métodos Analíticos, Curso Internacional, Cuba, 2005

-ICH Q2. Harmonised Tripartite Guideline. Validation of analltical procedures: Text and Methodolory. ICH, November.2005

3. RESULTADOS Y DISCUSION

Linealidad

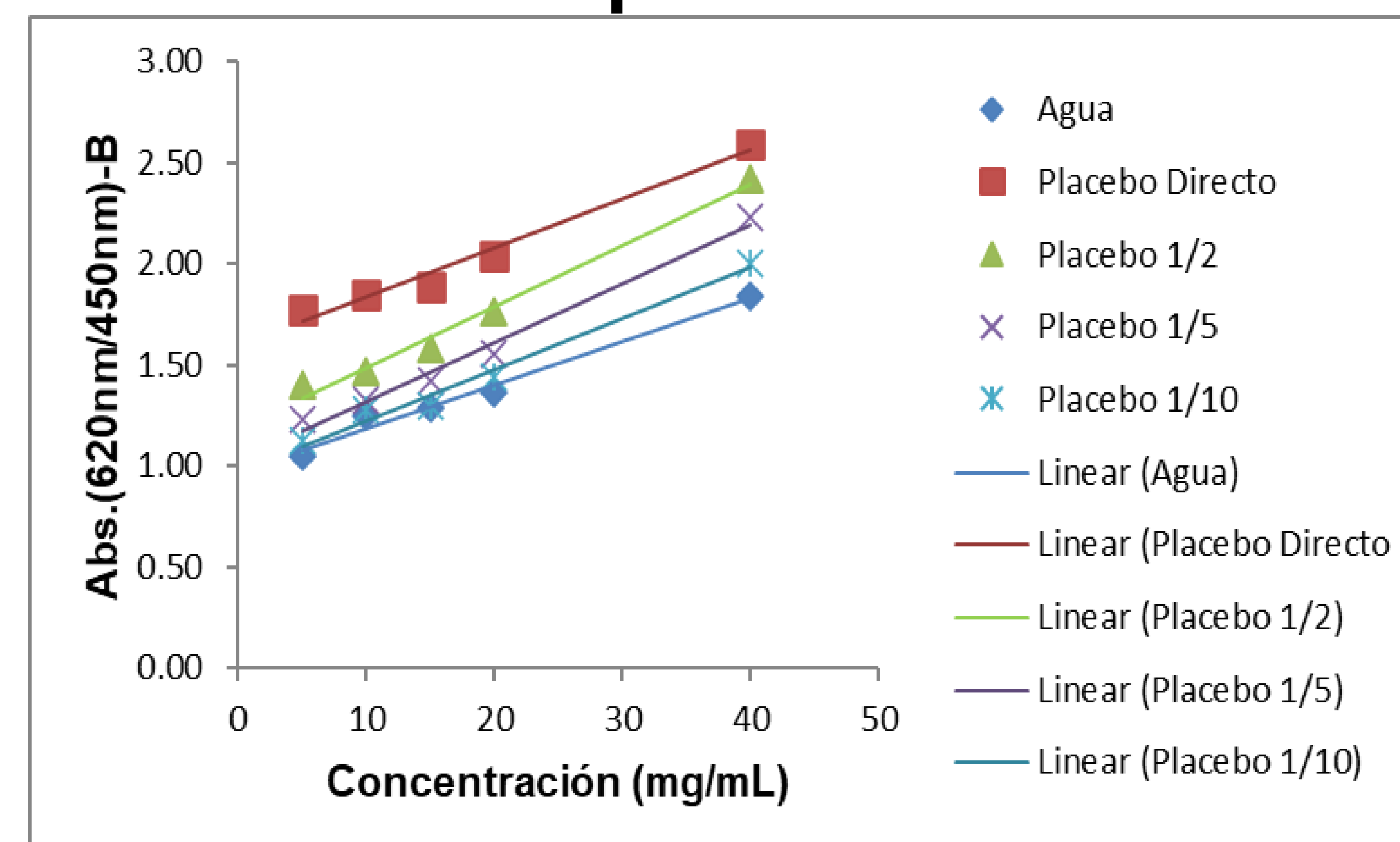
Parámetros	Curva1	Curva 2	Curva 3	Curva 4	Curva 5
Coeficiente de determinación (R ² ≥ 0,98)	0,993	0,997	0,999	0,999	0,991
Probabilidad asociada a F (para la Significación de la pendiente)	2,60E-15	1,81E-17	3,48E-14	3,50E-21	2,28E-13
P ≤ 0,01					
ANOVA de la falta de ajuste. P ≥ 0,05	0,075	0,149	0,700	0,550	0,555



Criterios de aceptación:

- Coeficiente R² ≥ 0.990
- Prueba de significación de la pendiente con p ≤ 0.01
- Prueba de desviación de ajuste lineal con p ≥ 0.05

Especificidad



No existe interferencia en la cuantificación

Precisión del método:

	Laboratorio de Analítica		Laboratorio de Control			
	Desarrollo		de la Calidad			
Muestras	Analista1	Analista2	Analista3	C.M global	D.S global	C.V global
2121VE08	0,98	1,01	1,1	1,03	0,06	5,96
2211VE08	0,83	0,94	0,9	0,89	0,06	6,29
2311VE08	0,83	0,95	1	0,93	0,09	9,49

Criterios de aceptación:

- Repetibilidad : CV ≤ 10
- Precisión intermedia: CV ≤ 15
- Reproducibilidad: CV ≤ 20

4. CONCLUSIONES

- Los resultados de las pruebas estadísticas realizadas a las curvas de calibracion demuestran que se ajustan a una linea recta, coeficientes de determinacion **R² ≥ 0.98**, probabilidad asociada **Ffisher P ≤ 0.01**
- Las muestras de CIGB-247 para su cuantificación se hacen a partir de la dilución 1/20 , por lo tanto no existe interferencia en la cuantificación de proteínas.
- En los ensayos de presicion del método se cumple en todos los casos con el criterio de aceptación.