

Producción

Instituto de Hematología e Inmunología
Centro de Inmunología Molecular

SISTEMA ANALÍTICO DE EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DEL REACTIVO HEMOCLASIFICADOR HEMO-CIM ANTI-A

Lic. Lilia Suárez Batista,¹ Lic. Alina Hernández Santana,² Lic. René Rivero Jiménez,¹ Lic. Antonio Bencomo Hernández¹ y Dra. Teresita Rodríguez Obaya²

RESUMEN

Con el objetivo de llevar a cabo el escalado industrial de los productos hemoclasificadores a partir de anticuerpos monoclonales murinos, se realizaron diversas actividades para crear las condiciones que permitieran su manufactura con el cumplimiento de las buenas prácticas de producción en el Centro de Inmunología Molecular. Se introdujeron los métodos analíticos para determinar la calidad del producto hemoclasificador Hemo-CIM anti-A en el Departamento de Control de la Calidad, se entrenó al personal responsable de esta actividad en el uso de estos métodos de evaluación de la actividad biológica del AcM anti-A en el sobrenadante, líquido ascítico y producto terminado; se diseñaron y elaboraron los documentos que forman parte del sistema de documentación; entre ellos, los procedimientos normalizados de operación (PNO), los expedientes maestros de lotes, los documentos para la recolección de datos, así como los registros de lote, los certificados de calidad y los registros de las mediciones de la actividad biológica para archivar los resultados en el laboratorio.

Descriptores DeCS: ANTICUERPOS MONOCLONALES/análisis.

El control de la calidad comprende las técnicas y actividades operativas destinadas a monitorear un proceso y eliminar las causas de resultados no

satisfactorios en todas las etapas de la espiral de la calidad, con el fin de lograr una mejor eficiencia económica.¹ Por lo tanto, en una industria interesada en producir un

¹ Instituto de Hematología e Inmunología.

² Centro de Inmunología Molecular.

determinado producto, es necesario crear las condiciones en el departamento de calidad para introducir los métodos analíticos que permiten determinar la calidad del producto y entrenar al personal para que realice esta actividad.

Otra actividad necesaria es la elaboración de la documentación, que es una parte esencial de cualquier sistema de aseguramiento de la calidad y está relacionada con todos los aspectos de las buenas prácticas de producción (BPP), las buenas prácticas de laboratorio (BPL) y las buenas prácticas clínicas (BPC), que nos permiten tener un camino hacia la información, tener una guía de entrenamiento y un formato para el establecimiento de los compromisos.²

Los documentos directivos, entre ellos los procedimientos normalizados de operación (PNO) y los expedientes maestros de lotes, los documentos para la recolección de datos como los registros de lote y los certificados, forman parte de la documentación que componen un sistema de documentación.²

Para la producción del reactivo hemoclasificador Hemo/CIM anti-A en el Centro de Inmunología Molecular (CIM), se trabajó en estas actividades, con el fin de crear las condiciones necesarias para el establecimiento del control de la calidad de dicho reactivo, que permitiera la verificación de la conformidad de las materias primas y el producto final de acuerdo con las especificaciones establecidas y para registrar todas las etapas del proceso productivo, dejando constancia de la realización de todas las actividades que conforman la manufactura del producto.

MÉTODOS

ESTABLECIMIENTO DEL SISTEMA ANALÍTICO

La determinación de la actividad biológica del producto Hemo-CIM anti-A

se definió por la potencia y la especificidad mediante la técnica de hemaglutinación por centrifugación en tubo; la avidéz y la intensidad mediante la técnica de hemaglutinación en lámina portaobjeto utilizando los métodos recomendados por las agencias regulatorias FDA y CECMED para la evaluación de los reactivos hemoclasificadores.^{3,4} La potencia y la especificidad de los AcM anti-A en los lotes de sobrenadantes se definió mediante la técnica de hemaglutinación en placa. Además se creó un panel de eritrocitos que incluye los grupos A₁, B, A₂B y O que se congelaron a una temperatura de -20 °C para poder realizar esta actividad.

Se entrenó al personal responsable de la evaluación de la actividad biológica con el objetivo de que conociera los procedimientos necesarios para realizar esta actividad, cumpliendo con las BPP.

CREACIÓN DE LA BASE DOCUMENTAL

Se escribieron los PNO para la preparación de las soluciones necesarias para realizar las técnicas de hemaglutinación y los PNO de la descripción de los métodos analíticos necesarios para determinar la actividad biológica del AcM anti-A con el fin de asegurar que el personal relacionado con la aprobación o no de los lotes (sobrenadante de cultivo, líquido ascítico [LAM] y producto final), supiera lo que tenía que hacer y cuándo hacerlo y así evitar posibles errores. Además, una vez definido el proceso de producción del reactivo hemoclasificador Hemo-CIM anti-A, se elaboraron los registros de lotes para la formulación, llenado, etiquetado y envase de dicho reactivo.

En la elaboración de estos documentos se tuvieron en cuenta los requisitos para que estos documentos

fueran claros y precisos y se cumpliera con los principios de las BPL y las BPP.^{5,6}

Se diseñaron y elaboraron los certificados de calidad para el registro de los resultados obtenidos en la evaluación de los lotes por parte del Departamento de Control de la Calidad del CIM y los registros de las mediciones de la actividad biológica para archivar los resultados en el laboratorio.

RESULTADOS

Los métodos analíticos establecidos permiten evaluar los lotes de sobrenadante, LAM y producto final en el Departamento de Control de la Calidad del CIM, que cuenta en la actualidad con un personal adiestrado y capacitado para evaluar correctamente la actividad biológica del AcM anti-A.

Se redactaron los PNO para la preparación de las soluciones que se utilizan en la realización de las técnicas de hemaglutinación y los PNO de la descripción de los métodos analíticos.

PNO para la preparación de las soluciones necesarias para realizar las técnicas de hemaglutinación

	<i>Código</i>
Solución de glicerol al 5 %.	PNO-4052
Solución de congelación.	PNO-4053
Solución de glicerol al 12 %.	PNO-4054
Solución hipertónica de cloruro de sodio.	PNO-4055
Solución de bromelina.	PNO-4056
Solución de cloruro de sodio 0,9 %/1 % de BSA.	PNO-4057

PNO de la descripción de los métodos analíticos necesarios para determinar la actividad biológica del AcM anti-A

Determinación de la actividad biológica del sobrenadante

que contiene anticuerpos monoclonales	
hemoclasificadores.	PNO-5043
Congelación de eritrocitos.	PNO-5076
Descongelación de eritrocitos.	PNO-5077
Determinación de la actividad biológica del producto final de los anticuerpos monoclonales	
hemoclasificadores.	PNO-5078
Determinación de la potencia y la especificidad del líquido ascítico y del producto final de los AcM hemoclasificadores.	PNO-5079
Determinación de la avidéz, la intensidad y la especificidad del líquido ascítico y del producto final de los AcM hemoclasificadores.	PNO-5081

En el formato de estos documentos se desarrollaron los siguientes acápite: título, campo de aplicación, responsabilidad, consideraciones de seguridad, equipamiento y materiales, preparación de soluciones, procedimiento y registro de datos.^{5,7}

Se elaboraron los certificados de calidad para el registro de los resultados de la evaluación del sobrenadante, LAM y producto final.

Certificados de calidad *Código*

Hemoclasificador Hemo-CIM anti-A.	REG-5102
Pruebas al producto de cultivo celular para productos diagnosticadores.	REG-5111
Líquido ascítico de los hemoclasificadores	REG-5119

Se diseñó el registro de lotes para la formulación del producto con código REG-7070 y el registro de lotes para el llenado, etiquetado, y envase del producto Hemo-CIM anti-A con código REG-7072, una vez que se definieron todos los eventos del proceso por separado. En el primer documento se incluyeron los siguientes pasos:

1. Creación de las condiciones para iniciar la formulación del producto Hemo-CIM anti-A.
 - Resumen del registro de la preparación del local y los equipos.
 - Registro del material y la cristalería necesarios.
 - Registro de existencia de los reactivos y agua para inyección.
 - Recepción del líquido ascítico.
2. Preparación del líquido ascítico para la formulación del producto Hemo-CIM anti-A.
 - Descongelación del líquido ascítico.
 - Ajuste de pH.
 - Preparación del filtro y filtración del líquido ascítico.
3. Preparación de la solución balanceada de fosfatos.
 - Pesada de los reactivos.
 - Disolución de los reactivos.
 - Ajuste de pH y enrase de la solución balanceada de fosfato a volumen final.
4. Filtración de la solución balanceada de fosfato.
 - Preparación del filtro.
 - Filtración.
5. Formulación del producto Hemo-CIM anti-A.
 - Mezcla del líquido ascítico y la solución balanceada de fosfatos.
 - Ajuste de pH.
6. Filtración del producto Hemo-CIM anti-A.
 - Primera etapa de filtración.
 - Segunda etapa de filtración.
 - Balance de la filtración.
7. Toma de muestra a granel.

- Toma de la muestra y entrega al Departamento de Control de la Calidad para la evaluación de la actividad biológica.
- Mantenimiento del producto a 4 °C hasta su liberación para el llenado.

En el segundo documento se incluyeron los siguientes pasos:

1. Creación de las condiciones para iniciar el llenado, etiquetado y envase del Hemo-CIM anti-A.
 - Resumen del registro de la preparación del local y los equipos.
2. Creación de las condiciones para el llenado del Hemo CIM anti-A.
 - Registro de la cristalería necesaria.
3. Llenado.
 - Calibración de la llenadora.
 - Llenado.
 - Revisión.
4. Etiquetado.
 - Edición de etiquetas.
 - Etiquetado.
 - Toma de muestra y distribución de las muestras.
5. Envase del producto.
6. Entrega del lote al almacén del producto terminado.

Todos los documentos fueron revisados y aprobados por el Jefe del Departamento de Control de la Calidad y por el Departamento de Aseguramiento de la Calidad del CIM.

DISCUSIÓN

Una vez que se decidió crear toda la infraestructura necesaria para la producción del reactivo monoclonal hemoclasificador Hemo-CIM anti-A en el

CIM, teniendo en cuenta los resultados alentadores obtenidos por los estudios de caracterización inmunohematológica del AcM anti-A IHI-15,^{8,9} se hizo necesario introducir un sistema analítico que permitiera realizar la actividad de control de la calidad a los lotes producidos de dicho reactivo y las materias primas ricas en AcM anti-A. Con este objetivo, se introdujeron las técnicas de hemaglutinación recomendadas por la FDA y CECMED para la evaluación de los reactivos hemoclasificadores.^{3,4} Para este propósito se adiestró al personal necesario y se crearon los documentos que soportan esta actividad para cumplir con las BPP.

Desde el año 1996, paralelamente con la evaluación de los lotes del producto terminado Hemo-CIM anti-A realizado en el Departamento de Control de la Calidad del CIM, también estos lotes de reactivos se evaluaron en el Instituto de Hematología e Inmunología como centro de referencia nacional y laboratorio acreditado por el CECMED, como control externo, que redundó en una garantía de la calidad del producto en el mercado y demostró la reproducibilidad de los resultados obtenidos mediante las técnicas introducidas.

Para la introducción de las técnicas de hemaglutinación necesarias para determinar la actividad biológica del AcM anti-A en los lotes de sobrenadante, LAM y producto terminado, se trabajó en la confección de los PNO con el objetivo de preparar las soluciones necesarias para realizar las técnicas de hemaglutinación y los PNO de la descripción de los métodos analíticos necesarios para determinar la actividad biológica del AcM anti-A. En estos

documentos se describe cómo realizar las operaciones y qué hay que hacer para llevar a cabo la actividad de evaluación de los lotes entregados al Departamento de Control de la Calidad para su liberación, evitando los errores.⁵

Además en la confección de los registros de lote para la formulación del reactivo Hemo-CIM anti-A y para el envase, llenado y etiquetado de dicho producto, se cuenta con un documento que describe los pasos a realizar por los operarios y permite registrar los datos dejando constancia de la realización de la actividad, con lo que se logra una trazabilidad de todos los productos que conforman el proceso productivo del reactivo Hemo-CIM anti-A.⁶

Los certificados de calidad nos permitieron recolectar los datos de la evaluación de los lotes, y emitir el veredicto sobre su calidad.

Los registros de lote y los certificados de calidad a su vez conformaron los registros de cada lote de producto Hemo-CIM anti-A. Este documento, permite analizar retrospectivamente un proceso productivo e identificar errores cometidos, si se detecta una desviación en la intención para la cual el producto fue destinado, además permite la creación del expediente maestro de lote.⁶

Estos documentos se prepararon bajo los requerimientos de las agencias regulatorias con el objetivo de cumplir con las buenas prácticas y su implantación, entre otros aspectos y permitió que la agencia regulatoria nacional CECMED, una vez que inspeccionara el CIM, le otorgara la licencia de producción de este producto.

SUMMARY

With the objective of carrying out industrial scaling of hemoclassifier products from murin monoclonal antibodies, a number of activities were performed to create the conditions for their manufacture in compliance with good manufacturing practices of the Molecular Immunology Center. The analytical methods were introduced to determine the quality of anti-A Hemo-CIM hemoclassifier in the Quality Assurance Department. Staff responsible for this work was trained in the use of these evaluation methods of the biological action of anti-A monoclonal antibody in supernatant, ascitic fluid and finished product; the documents that are part of the documentation system were designed and prepared, among them standard operating procedures, master production batch records, documents for data-gathering, batch records, quality certificates and biological activity measurement registers to file lab results.

Subject headings: ANTIBODIES, MONOCLONAL/analysis.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rodríguez A, Martínez V, Espinosa N, Reyes N, Reyes G. Control de la calidad. Fundamentos del control de la calidad. Ciudad de La Habana, ISPAJE, 1994:1-17.
2. DeSain C. Documentations basics that support good manufacturing practices. Introduction. Eugene, Oregon: Aster, 1993:v-vii.
3. US Food and Drug Administration. Recommended methods for blood grouping reagents evaluation. Docket No. 845-0181, March 1992:1-53.
4. CECMED. Guía para la evaluación de los diagnosticadores. Anexo. Diagnosticadores en Inmunohematología. República de Cuba, 1996:3-17.
5. DeSain C. Documentations basics that support good manufacturing practices. Standard Operating Procedures. Eugene, Oregon: Aster, 1993:27-33.
6. Documentations basics that support good manufacturing practices. Master production batch records. Eugene, Oregon: Aster, 1993:34-45.
7. Peine C. Quality assurance compliance. Procedures for pharmaceutical and biotechnology manufacturers. Buffalo: Interpharm, 1994.
8. Rivero R, Suárez L, Bencomo A, González R, González JM, Palma L, et al. Generación de un hibridoma de ratón secretor de anticuerpos monoclonales contra el antígeno del grupo sanguíneo A del sistema ABO humano. Biotecnol Aplicada 1995;12:23-9.
9. Suárez L, Rivero R, Bencomo A, Díaz T, González M, Estrada J, et al. Ensayo de terreno de anticuerpos monoclonales hemoclasificadores obtenidos en Cuba. Rev Cub Hematol Inmunol Hemoter 1997;13:63-9.

Recibido: 5 de octubre de 1999. Aprobado: 2 de noviembre de 1999.

Lic. *Lilia Suárez Batista*. Instituto de Hematología e Inmunología. Apartado 8070, CP 10800, Ciudad de La Habana, Cuba. Teléf: (537) 578268. Fax: (537) 338979. e-mail: ihidir@hemato.sld.cu